

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JOÃO MANOEL FOLADOR RODRIGUEZ

CINÉTICA, COMPOSIÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE  
DE EXTRATOS DE RAÍZ DE BARDANA (*Arctium lappa*) OBTIDOS COM CO<sub>2</sub>  
SUPERCRÍTICO E COSSOLVENTE

CURITIBA

2018

JOÃO MANOEL FOLADOR RODRIGUEZ

CINÉTICA, COMPOSIÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE  
DE EXTRATOS DE RAÍZ DE BARDANA (*Arctium lappa*) OBTIDOS COM CO<sub>2</sub>  
SUPERCRÍTICO E COSSOLVENTE

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Marcos Lúcio Corazza

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roberta Letícia Kruger

CURITIBA

2018

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR  
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

R696c

Rodriguez, João Manoel Folador

Cinética, composição e avaliação da atividade antioxidante de extratos de raiz de Bardana (*Arctium Lappa*) obtidos com CO<sub>2</sub> supercrítico e cossolvente / João Manoel Folador Rodriguez. – Curitiba, 2018.

81 p. : il. color.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2018.

Orientador: Marcos Lúcio Corazza – Coorientador: Roberta Letícia Kruger.

Bibliografia: p. 64-79.

1. Antioxidantes. 2. Bardana (Planta). 3. Metanol. 4. Dióxido de carbono. I. Universidade Federal do Paraná. II. Corazza, Marcos Lúcio. III. Kruger, Roberta Letícia. IV. Título.

CDD: 664.804

Bibliotecário: Elias Barbosa da Silva CRB-9/1894

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **JOÃO MANOEL FOLADOR RODRIGUEZ**, intitulada: **CINÉTICA, COMPOSIÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE RAÍZ DE BARDANA (*ARCTIUM LAPPA*) OBTIDOS COM CO<sub>2</sub> SUPERCRÍTICO E COSSOLVENTE**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de Mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 27 de Fevereiro de 2018.



MARCOS LÚCIO CORAZZA(UFPR)  
(Presidente da Banca Examinadora)



FERNANDO AUGUSTO PEDERSEN VOLL(UFPR)

Valesca Kotovicz  
VALESKA KOTOVICZ(UNICENTRO)

***Dedico este trabalho à minha família, em especial, minha mãe,  
Luciane, e meus nonos, Lila e Lori.***

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por me proporcionar as oportunidades para chegar até este ponto e conviver com pessoas incríveis.

À minha mãe, Luciane, pelo amor incondicional e pela sua presença em todos os momentos desta conquista.

À minha nona, Lila, por todos os cuidados desde sempre e pelos sábios conselhos. Levarei seus ensinamentos para sempre comigo.

Ao meu nono, Lori (*in memoriam*), por ser o meu principal referencial de como ser um homem humilde e honrado.

À minha família de maneira geral, por ser meu porto seguro.

Ao meu orientador, Marcos L. Corazza, por todos os ensinamentos, paciência, confiança e, principalmente, pela amizade. Fica aqui registrada minha profunda gratidão e reconhecimento pelo seu brilhantismo.

À minha co-orientadora, Roberta L. Krüger, por todo tempo à realização deste trabalho. Será sempre para mim um exemplo de excelência como pessoa e profissional.

Aos professores membros da banca examinadora por terem aceitado o convite para contribuir com o trabalho.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da UFPR por todo o conhecimento repassado.

Aos colegas do LACTA, Damian, Aline, Kanda, Ariádine, Estela, Natália, Amanda, Alexis e Paulo, pelo companheirismo e disponibilidade em ajudar.

***What we do in life echoes in eternity***

*Gladiator*



## RESUMO

As propriedades benéficas da bardana têm sido aplicadas em todo o mundo em produtos alimentícios, químicos e farmacêuticos. Os compostos presentes nos extratos possuem muitas propriedades que os tornam altamente valiosos. Nos últimos anos, a aplicação de fluidos supercríticos à processos de extração cresceu rapidamente, contudo, ainda é necessário aprofundar os estudos nesta área a fim de tornar viável as aplicações a nível industrial. As extrações das raízes de *Arctium lappa* foram realizadas usando CO<sub>2</sub> supercrítico (scCO<sub>2</sub>) e propano comprimido com metanol como co-solvente. Os experimentos foram executados sob as seguintes condições para o scCO<sub>2</sub>: 10, 15 e 20 MPa e 40, 60 e 80 °C variando a proporção entre massa de metanol e massa de sólidos. O melhor rendimento de extração com scCO<sub>2</sub> (8,25 %) foi obtido a 20 MPa, 80 °C e proporção de 1:1 entre metanol e sólidos. O aumento da temperatura afetou positivamente os rendimentos de extração, assim como o aumento da proporção em condições intermediárias de extração (15 MPa e 60 °C) promoveu um aumento no rendimento. A 20 MPa e 80 °C o aumento da proporção ocasionou uma redução no rendimento. A extração com propano foi realizada a 5 MPa, 60 °C e proporção de 2:1 entre massa de metanol e massa de sólidos e apresentou um resultado levemente superior ao da extração com scCO<sub>2</sub>, alcançando um rendimento de 8,41 %. Os principais compostos encontrados nos extratos de bardana foram ftalato de dioctilo (DIOP), 2,3-di-hidro-3,5-di-hidroxy-6-metil-4H-piran-4-ona (DDMP), glicerol e pentadecanal. O extrato com maior potencial antioxidante foi obtido a 15 MPa e 60 °C (proporção mássica de 4:1) usando scCO<sub>2</sub>. O maior número de compostos fenólicos foi encontrado no extrato obtido a 20 MPa e 80°C (proporção de 4:1 entre massa de metanol e massa de sólidos) com scCO<sub>2</sub>. O aumento da proporção entre massa de metanol e massa de sólidos afetou positivamente o conteúdo fenólico e a atividade antioxidante dos extratos obtidos a 20 e 15 MPa, respectivamente. Um efeito negativo do aumento da proporção mássica foi observado a 15 MPa para conteúdo fenólico e a 20 MPa para potencial antioxidante.

**Palavras-chave:** Extração supercrítica, raiz de bardana, CO<sub>2</sub>, propano, metanol, composição química, atividade antioxidante.



## ABSTRACT

The beneficial burdock properties have been applied worldwide in food, chemical and pharmaceutical products. The compounds of extracts have many properties which become them highly valuable. Recently, supercritical extraction use has grown quickly, however, it is still necessary to deep the studies in this area to become viable the applications at industrial level. *Arctium lappa* roots extractions were performed using supercritical CO<sub>2</sub> (scCO<sub>2</sub>) and compressed propane with methanol as co-solvent. Experiments were performed under the following conditions to the scCO<sub>2</sub>: 10, 15 and 20 MPa and 40, 60 and 80 °C varying the methanol to solids mass ratio. The best extraction yield with scCO<sub>2</sub> was obtained at 20 MPa, 80 °C and methanol to solids mass ration of 1:1 (8.25 wt%). Temperature increase affected positively the extraction yields. Ratio increase at intermediary extractions conditions (15 MPa and 60 °C) provided an enhancement in the yield. At 20 MPa and 80 °C the increase of ratio provided a yield reduction. The extraction with propane was carried out at 5 Mpa, 60 °C and methanol to solids mass ration of 2:1 and presented a slightly better result than extraction with scCO<sub>2</sub>, reaching a yield of 8.41 wt%. The major compounds found in burdock extracts were diisooctyl phthalate, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one (DDMP), glycerol and pentadecanal. The extract with higher antioxidant potential was obtained at 15 MPa and 60 °C (ratio of 4:1) using scCO<sub>2</sub>. Higher number of phenolic compounds was found in the extract obtained at 20 MPa and 80 °C (methanol to solids ratio of 4:1) with scCO<sub>2</sub>. Methanol to raw material ratio increase affected positively the phenolic content and antioxidant activity of extracts obtained at 20 and 15 MPa, respectively. A negative effect of this was observed at 15 MPa to phenolic content and at 20 MPa to antioxidant potential.

**Keywords:** Supercritical extraction, burdock roots, CO<sub>2</sub>, propane, methanol, chemical composition, antioxidant activity.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - (a) VISTA GERAL DA PLANTA DE <i>Arctium lappa</i> ; (b) FLORES DE <i>Arctium lappa</i> ; (c) RAÍZES DE <i>Arctium lappa</i> . ....	16
FIGURA 2 - DIAGRAMA DE FASES DE UMA SUBSTÂNCIA PURA. ....	30
FIGURA 3 - CURVA TÍPICA DE EXTRAÇÃO COM A REPRESENTAÇÃO DAS TRÊS ETAPAS DO PROCESSO. ....	33
FIGURA 4 - DIAGRAMA DO APARATO EXPERIMENTAL MONTADO EM ESCALA DE LABORATÓRIO PARA A OBTENÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS UTILIZANDO FLUIDO PRESSURIZADO COMO SOLVENTE. ....	38
FIGURA 5 - EFEITOS DA PROPORÇÃO ENTRE MASSA DE METANOL E MASSA DE RAÍZ DE BARDANA SOBRE OS RENDIMENTOS DAS EXTRAÇÕES USANDO $\text{scCO}_2$ COMO SOLVENTE. ....	49
FIGURA 6 - CURVAS CINÉTICAS GLOBAIS DAS EXTRAÇÕES DE RAÍZ DE BARDANA USANDO $\text{scCO}_2$ COMO SOLVENTE A (■) 10 MPa E 40 °C E (●) 10 MPa E 80 °C AMBOS COM PROPORÇÃO MÁSSICA DE 1:1 ENTRE METANOL E BARDANA. ....	50
FIGURA 7 - CURVAS CINÉTICAS GLOBAIS DAS EXTRAÇÕES DE RAÍZ DE BARDANA COM $\text{scCO}_2$ COMO SOLVENTE A 15 MPa E 60 °C COM PROPORÇÃO MÁSSICA ENTRE METANOL E BARDANA DE (■) 0,5:1, (●) 1:1, (▲) 2:1 E (▼) 4:1. ....	51
FIGURA 8 - CURVAS CINÉTICAS GLOBAIS DAS EXTRAÇÕES DE RAÍZ DE BARDANA USANDO $\text{scCO}_2$ COMO SOLVENTE A (■) 20 MPa, 40 °C E PROPORÇÃO MÁSSICA DE 1:1 ENTRE METANOL E BARDANA; (●) 20 MPa, 80 °C E 1:1; (▲) 20 MPa, 80 °C E 2:1 E (▼) 20 MPa, 80 °C E 4:1. ....	52
FIGURA 9 - CURVAS CINÉTICAS GLOBAIS DAS EXTRAÇÕES DE RAÍZ DE BARDANA USANDO $\text{scCO}_2$ COMO SOLVENTE A 15 MPa, 60 °C, PROPORÇÃO MÁSSICA DE 1:1 ENTRE METANOL E BARDANA E (■) 60 min E (●) 120 min DE TEMPO ESTÁTICO DE EXTRAÇÃO; E (▲) PROPANO COMPRIMIDO A 5 MPa, 60 °C E ....	53

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – PRINCIPAIS MINERAIS CONTIDOS NA RAÍZ DE BARDANA E SUAS RESPECTIVAS QUANTIDADES. ....	17
TABELA 2 – PRINCIPAIS SOLVENTES UTILIZADOS NA EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA .....	31
TABELA 3 – DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA DA RAÍZ DE BARDANA TRITURADA .....	34
TABELA 4 – CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS E RESULTADOS DOS RENDIMENTOS PARA AS EXTRAÇÕES DE RAÍZ DE BARDANA .....	45
TABELA 5 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS DE RAÍZ DE BARDANA USANDO $scCO_2$ E PROPANO COMO SOLVENTES. ....	55
TABELA 6 – CONTEÚDO DE FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE RAÍZ DE BARDANA OBTIDOS COM $scCO_2$ E PROPANO COMPRIMIDO COMO SOLVENTES. ....	58

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
2.1 GERAL .....	15
2.2 ESPECÍFICOS .....	15
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>16</b>
3.1 <i>Arctium lappa</i> .....	16
3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS .....	20
3.2.1 Óleos essenciais .....	20
3.2.2 Extratos .....	21
3.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	21
3.3.1 Métodos de avaliação da atividade antioxidante .....	23
3.3.1.1 Método de sequestro de radical livre DPPH .....	24
3.3.1.2 Método de redução do complexo fosfomolibdênio .....	25
3.3.1.3 Métodos para determinação de compostos fenólicos .....	25
3.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO .....	26
3.4.1 Extração por destilação por vapor d'água .....	26
3.4.2 Extração com solvente orgânico .....	27
3.4.3 Extração com fluido supercrítico .....	28
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>34</b>
4.1 PREPARO DA MATÉRIA PRIMA .....	34
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA .....	35
4.2.1 Umidade residual .....	35
4.2.2 Diâmetro médio das partículas .....	35
4.2.3 Densidade aparente e real .....	36
4.2.4 Porosidade do leito de partículas .....	37
4.3 EXTRAÇÃO COM SOLVENTE ORGÂNICO .....	37
4.4 EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO .....	38
4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS .....	39
4.5.1 Composição química .....	39
4.5.2 Determinação do conteúdo fenólico total .....	40
4.5.3 Avaliação da atividade antioxidante total .....	41
4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	42
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>43</b>

5.1 RENDIMENTOS DAS EXTRAÇÕES .....	43
5.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS DE <i>Arctium lappa</i> .....	54
5.3 CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	57
6 CONCLUSÕES .....	62
REFERÊNCIAS.....	64
APÊNDICE A.....	80

## 1 INTRODUÇÃO

Extratos provenientes de plantas têm sido aplicados por diferentes propósitos e, devido ao seu potencial, são utilizados como remédios alternativos e conservantes de alimentos (JONES, 1996). Extratos naturais têm grande importância devido as suas propriedades biológicas, tais como capacidades antioxidante e antimicrobiana. Essas características permitem a utilização dos extratos como protetor de alimentos, biocidas, repelentes e remédios. Além disso, os extratos naturais são compostos por substâncias com potencial comercial considerável como material de partida para a síntese de químicos (BRANDÃO et al., 2008; BASER; BUCHBAUER, 2010).

A *Arctium lappa* é uma erva medicinal chinesa e uma planta perene comestível da família Asteraceae. As suas raízes são um ingrediente popular em alimentos asiáticos, enquanto as folhas são ingeridas como infusões ou aplicadas como pomada. Popularmente conhecida como bardana, essa planta foi trazida da Ásia e aclimatizada em muitos países em todo o mundo, incluindo o Brasil. Diferentes partes da bardana são utilizadas de acordo com o efeito terapêutico específico desejado. Esta planta tem sido frequentemente aplicada para o tratamento de várias doenças, como infecções de garganta e pele, intoxicações para aliviar dores reumáticas e febre (VAN WYK; WINK, 2004; WANG et al., 2012; CARLOTTO et al., 2015; JEELANI; KHUROO, 2012).

As raízes de bardana possuem alguns efeitos terapêuticos importantes, tais como atividades anti-inflamatória, hepatoprotetoras e de eliminação de radicais livres (LIN et al., 1996; LIN et al., 2002). Recentemente, foi confirmado que a *A. lappa* é capaz de melhorar a proteção do muco no estômago e intestinos, além de prevenir lesões mucosas causadas pelo álcool (WU et al., 2010). Alguns componentes da bardana têm apresentado grande importância no tratamento de algumas doenças. A actigenina, por exemplo, apresentou várias atividades farmacológicas, sendo as mais importantes as atividades antioxidante, anti-inflamatória, antiproliferativa e antiviral (LI et al., 2015; CHO et al., 2002; JANG et al., 2002; JEONG et al., 2014; LIU et al., 2015).

A qualidade dos extratos está fortemente atrelada à metodologia de extração empregada, já que a maior parte delas utiliza altas temperaturas e

solventes orgânicos. Diferentes estratégias têm sido aplicadas para recuperar compostos bioativos de plantas, como sistemas aquosos, álcool e fluidos supercríticos (SIVASOTHY et al., 2011; KAMAZERI et al., 2012; KADER et al., 2011; CHAN; LIM; OMAR, 2007; FORNARI et al., 2012; MESOMO et al., 2012). As propriedades físico-químicas dos fluidos supercríticos (difusividade, viscosidade, densidade e constante dielétrica) são de interesse já que podem ser ajustados a partir da variação da pressão e temperatura, permitindo o controle da seletividade e do poder de solvatação durante o processo de extração (FORNARI et al., 2012). As condições amenas aplicadas na extração supercrítica podem promover algumas vantagens, tais como reduzir significativamente os prejuízos relacionados à degradação térmica de alguns compostos, facilitar a recuperação do solvente devido à sua alta volatilidade e um período mais curto de extração. Devido à sua alta solubilidade, seletividade e transferência de massa, a extração com fluido supercrítico surge como uma alternativa interessante para a obtenção de extratos naturais (PRONYK; MAZZA, 2009; REVERCHON; DE MARCO, 2006; ROY; GOTO; HIROSE, 1996; BALACHANDRAN; KENTISH; MAWSON, 2006).

Recentemente, estudos apresentados na literatura testaram diferentes métodos para a extração de composto das raízes de bardana e avaliaram a composição química e atividade antioxidante dos extratos obtidos (JIANG et al., 2016; FERRACANE et al., 2010). Entretanto, estudos relacionados à obtenção de extratos de raiz de bardana usando CO<sub>2</sub> supercrítico (scCO<sub>2</sub>) e propano comprimido e suas respectivas caracterização química e avaliações biológicas são uma lacuna na literatura. Neste sentido, este trabalho focou nas curvas globais de extração desta matéria-prima usando scCO<sub>2</sub> e propano comprimido usando um cossolvente (metanol). As variáveis de processo (pressão e temperatura) e os efeitos dos solventes sobre a composição química, conteúdo fenólico total e atividade antioxidante dos extratos de raízes de bardana também foram avaliados.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Este trabalho tem como propósito a obtenção de extratos da raiz de *Arctium lappa* através da extração com fluido pressurizado com a finalidade de caracterizá-los quanto à sua composição química e avaliar seu potencial antioxidante.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- Definir o intervalo de operação (pressão e temperatura) da extração com CO<sub>2</sub> supercrítico;
- Determinar os rendimentos de extração da raiz de bardana pelos diferentes métodos utilizados: com solvente orgânico e com CO<sub>2</sub> supercrítico adicionado do cossolvente;
- Definir o cossolvente a ser utilizado na extração com CO<sub>2</sub> supercrítico;
- Definir as condições de pressão e temperatura que maximizam o rendimento da extração supercrítica;
- Testar o comportamento da extração usando propano comprimido adicionado de um cossolvente sob uma condição específica de pressão e temperatura;
- Avaliar o efeito da variação da proporção entre massa de cossolvente e massa de sólidos sobre a performance da extração;
- Determinar as curvas cinéticas de extração supercrítica;
- Comparar a composição química dos extratos obtido na extração com fluido supercrítico;
- Determinar a atividade antioxidante e conteúdo fenólico total dos extratos.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 *Arctium lappa*

A *Arctium lappa* (Figura 1) é uma planta medicinal pertencente à família Asteraceae que, no Brasil, possui diversas denominações populares, como bardana, gobô, orelha grande ou erva dos tinhosos (FONT QUER, 1993), sendo a primeira a mais difundida. Originária da Ásia e Europa, a bardana está adaptada ao clima brasileiro, crescendo de forma espontânea em variados locais, sendo frequentemente considerada uma planta invasora (LORENZI; MATOS, 2002).

A bardana é uma planta bienal e sua altura pode variar entre 1 e 3,5 m na fase adulta. Suas folhas são alternadas e grandes, sendo as maiores mais próximas à base do caule. A coloração das folhas varia de verde mais escuro a verde esbranquiçado, com as escuras posicionadas, geralmente, no topo da planta. As flores podem assumir as cores rosa, lavanda, roxa ou branca e são espinhosas, podendo alcançar um diâmetro de 1,9 cm (LYM; TRAVNICEK, 2015). A bardana tem como base uma raiz principal que tem em média 2,6 cm de diâmetro e comprimento superior a 30 cm. A raiz da bardana possui coloração acinzentada em seu exterior e bege no interior (SOKULSKI; OLIPHANT, 2009).

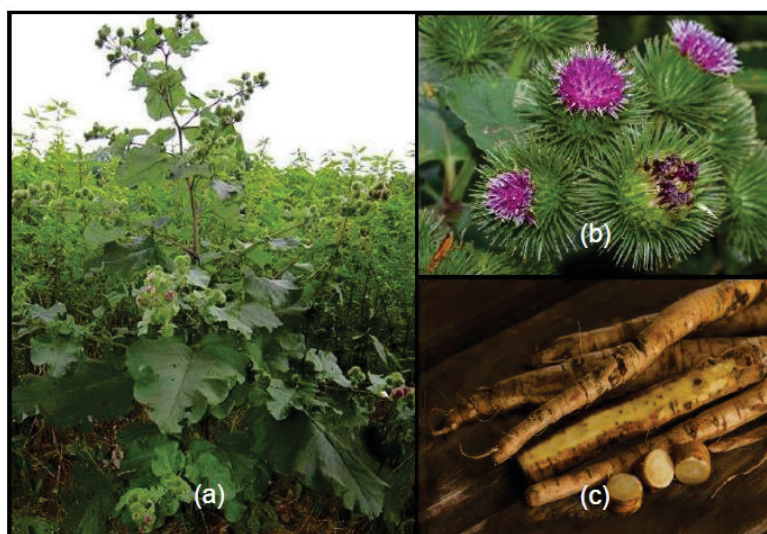


FIGURA 1 - (a) VISTA GERAL DA PLANTA DE *Arctium lappa*; (b) FLORES DE *Arctium lappa*; (c) RAÍZES DE *Arctium lappa*.

FONTE: SOKULSKI; OLIPHANT (2009); NIKKO (2016).

As raízes da bardana apresentam em sua estrutura alta quantidade de inulina (27 a 45%) e grande porção de proteínas (10,6 a 12%) (SOKULSKI; OLIPHANT, 2009). Existem também alguns compostos lipídicos, dos quais pode-se destacar os ácidos oleico, linoleico, linolênico e mirístico (BURLANDO et al., 2010). Na Tabela 1, podem ser visualizados os principais minerais presentes na raiz de bardana associados às suas respectivas quantidades.

TABELA 1 - PRINCIPAIS MINERAIS CONTIDOS NA RAÍZ DE BARDANA E SUAS RESPECTIVAS QUANTIDADES.

Componente	Quantidade (mg.100 g <sup>-1</sup> )
Cromo	2
Ferro	5,1 – 147
Magnésio	537
Cobalto	12
Fósforo	247 – 437
Potássio	755 – 1680
Sódio	127 – 152
Zinco	2,2
Alumínio	23
Cálcio	212 – 733

FONTE: SOKULSKI; OLIPHANT (2009).

Diversos outros compostos desta planta já foram identificados, tais como ácidos fenólicos, sendo os ácidos clorogênico, caféico e ainda a cinarina (FERRACANE et al., 2010); metabólitos secundários como os poliacetilenos: arctinal, arctinona e arctinol (CUNHA; SILVA; ROQUE, 2003); ácidos hidroxicinamóilquímicos contidos na raiz (LIN et al., 2008; DA SILVA et al., 2013), alguns terpenóides: arctiol, sesquiterpenos, fuquinona e  $\beta$ -eudesmol; fitosteróis: estigmaterol e  $\beta$ -sitosterol (BURLANDO et al., 2010); lignanas: arctigenina, arctiína e lapaois (LIU; CHEN; SCHLIEMAN, 2005; FERRACANE et al., 2010), diarctigenina e isopaol C (PARK et al., 2007); arctignana D (TEZUKA et al., 2013), arctignana E e matairesinol; flavonoides: rutina, luteolina, quercetina, baicalina e quercitrina (FERRACANE et al., 2010). Ainda pode-se mencionar as resinas e taninos (BURLANDO et al., 2010).

A utilização de plantas para fins terapêuticos é uma prática comum entre os povos de todo o mundo há muito tempo (SEVIGNANI; JACOMASSI, 2003).

No Brasil, a aplicação de plantas no combate de doenças é largamente difundida, sendo influenciada pelas contribuições culturais de índios, negros e europeus (LIMA; MAIA; MATOS, 2009).

A raiz de *A. lappa* é aplicada para o tratamento de doenças como diabetes, sendo utilizada como agente hipoglicemiante desde a antiguidade (CORRÊA; BATISTA; QUINTAS, 1999, LORENZI; MATOS, 2002). No entanto, esta planta possui muitas outras indicações terapêuticas, como controle de cólica nefrítica, artrite, dores de origem traumática, constipação intestinal, gripes e até insuficiência cardíaca, além de auxiliar no tratamento de doenças de pele e queda de cabelo (MORGAN, 2003).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), por meio da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC n°222 de 28 de dezembro de 2006), definiu orientações para a aplicação da raiz de bardana como um medicamento. Deve ser realizada uma decocção de 2,5 g de raiz de bardana em 150 mL de água. Para distúrbios digestivos e dores articulares, é indicado a administração via oral, sendo uma xícara de chá de duas a três vezes ao dia. Já para doenças de pele, indica-se o tratamento tópico por meio de compressas ao menos três vezes ao dia (BRASIL, 2006)

Nos últimos anos, em diversos países, a bardana tem sido recomendada em ocorrências de doenças cancerosas e por esse motivo vem adquirindo maior popularidade entre os chás medicinais (MARTINS et al, 2000; GENTIL et al, 2006). O potencial anticancerígeno da *A. lappa* foi comprovado em estudo realizado por Ming et al. (2004), utilizando o extrato de suas sementes no tratamento de células do câncer de próstata. Wang et al. (2004) demonstraram que a lignana arctiína possui efeito antitumoral. A arctiína pode trazer, ainda, outros benefícios. De acordo com Wu et al. (2010), esse composto possui uma forte capacidade anti-inflamatória e, por isso, pode melhorar a função renal e proteger contra lesões glomerulares. Ma et al. (2013), sugeriram, a partir de estudos com ratos, que a arctiína pode ser benéfica para a nefropatia diabética.

Nas últimas décadas, pesquisadores vêm aprofundando seus estudos sobre a capacidade da bardana em combater o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Alguns compostos extraídos da planta, como a arctigenina,

conseguem atuar bloqueando a replicação do vírus (VLIETINCK et al., 1998; KITAMURA et al., 1998; CHO; JANG; KIM, 2004). Tal capacidade é potencializada quando há a associação de zinco a esses compostos, fazendo com que a entrada do HIV nas células hospedeiras seja limitada (WANG et al., 2004).

Os ácidos clorogênicos também já foram descritos na literatura como compostos de potente atividade contra vírus, principalmente aqueles extraídos da folha da planta (CHIANG et al., 2002). Esses compostos possuem, também, um considerável efeito terapêutico sob problemas relacionados ao diabetes, pois é responsável pelo efeito anti-glicação, que promove a inibição dos produtos finais da glicação (GUGLIUCCI et al., 2009).

Além de estar presente em grande quantidade na raiz de bardana, a inulina possui alguns benefícios importantes. Este oligossacarídeo não digestível é capaz de estimular o crescimento da bifidobacteria, promovendo efeitos positivos à saúde. A inulina pode ainda prevenir câncer, influenciar o metabolismo lipídico e auxiliar no tratamento de diabetes (ROBERFROID; GIBSON; DELZENE, 1993; FLAMM et al., 2001).

Dentre os compostos da bardana, o  $\beta$ -sitosterol, presente no fruto e raiz da planta, possui grande interesse no meio científico devido à sua atividade hipoglicemiante (DA SILVA, 2014). Este composto consegue inibir eficientemente a atividade de enzimas envolvidas na glicogenólise ( $\alpha$ -glicosidases). Por isso, esse composto possui um efeito considerável no tratamento de doenças como obesidade e diabetes (MITSUO; NOBUO; KATSUYA, 2005).

Lima et al. (2006) demonstraram que os extratos provenientes das folhas de *A. lappa* possuem atividade antioxidante, atuando por meio da redução de radicais livres e inibição da peroxidação lipídica. Tal comportamento pode auxiliar a prevenção ou, pelo menos, redução de doenças associadas ao estresse oxidativo.

Alguns dos compostos oriundos dos frutos secos da bardana são capazes de promover a inibição da enzima conversora da angiotensina (ECA) e, por isso,

são considerados opções terapêuticas eficazes no tratamento da hipertensão arterial (BARBOSA-FILHO et al., 2006).

Embora o consumo de *Arctium lappa* traga diversos benefícios à saúde, é essencial considerar seus efeitos colaterais. A planta pode ocasionar algumas doenças alérgicas ou inflamatórias, como a dermatite de contato (CHAN et al., 2011). Sasaki et al. (2003) relataram um caso de desenvolvimento de anafilaxia somada à urticária, dificuldades de respiração e pressão sanguínea menor ao considerado normal após o consumo de bardana.

## 3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS E EXTRATOS

### 3.2.1 Óleos essenciais

A existência dos óleos essenciais é conhecida desde alguns séculos antes da era cristã. As referências históricas relacionadas à obtenção e aplicação dos óleos essenciais estão ligadas aos países orientais, sendo os principais Egito, Pérsia, Japão, China e Índia (VITTI; BRITO, 2003).

Os óleos essenciais são metabólitos secundários que podem ser extraídos de diversas partes das plantas. São caracterizados por sua composição química complexa e por garantir vantagens adaptativas às plantas no meio onde estão inseridas (OUSSALAH et al., 2007). A constituição dos óleos essenciais está baseada em derivados terpênicos, tais como os mono e sesquiterpenos e, ainda, os fenilpropanoides (SOLÓRZANO-SANTOS; MIRANDA-NOVALES, 2012).

No Brasil, a Anvisa, através do decreto n° 50.040 de 24 de janeiro de 1961, definiu óleo essencial como o produto volátil, aromático, sávido, sob a forma oleosa e extraído de matrizes vegetais (BRASIL, 1961). Ainda segundo a Anvisa, óleos essenciais podem ser definidos como produtos voláteis de origem vegetal obtidos a partir de processos físicos, tais como destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou algum outro método adequado. Os óleos essenciais podem se apresentar de forma isolada ou misturada entre si, retificados (produtos submetidos ao processo de destilação

fracionada com o objetivo de concentrar determinados constituintes), desterpenados (produtos submetidos ao processo de desterpenação) ou concentrados (produtos parcialmente desterpenados) (BRASIL, 1999).

De acordo com a ISO (International Standard Organization) 9235.2, óleo essencial é o produto obtido da planta em estado *in natura* por meio de destilação a vapor ou destilação com água; ou o produto obtido do pericarpo de frutas cítricas, por processos mecânicos ou destilação à seco (BASER; BUCHBAUER, 2010).

### 3.2.2 Extratos

Os extratos são definidos como os produtos obtidos por esgotamento a quente ou a frio de produtos de origem animal ou vegetal com a utilização de solventes permitidos, podendo ser eliminados posteriormente ou não. Os extratos devem possuir em suas composições os princípios sápidos aromáticos fixos e voláteis correspondentes ao respectivo produto em sua forma natural. Os extratos podem ser apresentados de duas formas: extratos líquidos (obtidos sem eliminação ou eliminação parcial de solvente) e extratos secos (obtidos com eliminação total de solvente) (BRASIL, 1999).

Qualquer produto que seja obtido por métodos de extração, incluindo a extração supercrítica e com fluido pressurizado, que não sejam os descritos pela norma ISO 9235.2 é declarado produto em não conformidade e, por esta razão, não pode ser denominado óleo essencial. Os produtos obtidos nestas condições são comumente conhecidos como extratos (BASER; BUCHBAUER, 2010).

## 3.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Todo organismo exposto aos efeitos de um ambiente oxigenado sofre estresse oxidativo e, por isso, cada um deles desenvolveu algum sistema de defesa antioxidante, buscando se proteger da oxidação. Os compostos antioxidantes estão contidos no grupo de metabólitos secundários das plantas (NASS, 2007) e podem ser de origem natural ou sintética (DORMAN et al., 2003). Os compostos utilizados para aumentar a estabilidade oxidativa dos alimentos



funcionam, basicamente, de três formas: controle de radicais livres, de intermediários da oxidação e de pró-oxidantes (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Os antioxidantes possuem papel determinante na prevenção e retardamento de doenças degenerativas devido a sua capacidade de controlar radicais livres. Os radicais livres são moléculas capazes de se associar com outros átomos de maneira rápida, desencadeando uma reação química capaz de transferir energia para células de tecidos do corpo humano, ocasionando danos (YEPES et al., 2002).

A importância dos antioxidantes naturais vem sendo comprovada por estudos científicos. O consumo de alimentos ricos em antioxidantes é traduzido em benefícios à saúde, embora os compostos sintéticos sejam de qualidade homogênea, mais baratos e de fácil obtenção (DORMAN et al., 2003). Entretanto, a aplicação de antioxidantes sintéticos aos alimentos possui restrições em diversos países, devido aos possíveis efeitos colaterais. Tal fato torna ainda maior o interesse na obtenção e utilização de antioxidantes naturais (HRAS et al., 2000).

Os antioxidantes são compostos caracterizados por conterem diversos grupos químicos e possuírem estruturas e propriedades variadas (CORTESI et al., 1999). Minerais, vitaminas, pigmentos, proteínas (de soja, principalmente), carotenoides e compostos fenólicos são as principais classes provenientes de vegetais capazes de agir como antioxidantes (VAN ACKER et al., 1996; KÄHKÖNEN et al., 1999; SOARES, 2002).

O potencial antioxidante de grande parte das plantas está associado aos compostos fenólicos, tais como ácidos fenólicos, flavonoides, diterpenos fenólicos (MILIAUSKAS; VENSKUTONIS; VAN BEEK, 2004), isoflavonoides, xantonas, lignanas, taninos, entre outros (RAZAVI et al, 2008; SACCHETTI et al., 2005).

Os compostos fenólicos são gerados no metabolismo secundário das plantas e são fundamentais para sua reprodução e crescimento, além de atuarem como agentes antipatogênicos e contribuírem para sua pigmentação. Esses compostos são formados quando a planta é submetida a situações de

estresse, como infecções, fermentos, exposição à radiação UV, etc. (NACZK; SHAHIDI, 2004). Os compostos fenólicos são muito frequentes nas plantas, sendo detectados sob mais de 8000 formas (SILVA et al., 2010), e são, ainda, um grupo muito diversificado de fitoquímicos derivados da tirosina e fenilalanina (NACZK; SHAHIDI, 2004). As propriedades redutoras dos compostos fenólicos são as responsáveis pelo seu alto poder antioxidante, pois permitem que atuem como doadores de hidrogênio, agentes redutores e quelantes de oxigênio (BRUM, 2010).

Os antioxidantes possuem grande importância na indústria alimentícia, pois podem minimizar a rancidez e retardar a formação de produtos tóxicos gerados pela oxidação, preservando as qualidades físico-química e sensorial e, conseqüentemente, aumentando a vida útil dos produtos (FUKUMOTO; MAZZA, 2000).

### 3.3.1 Métodos de avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante é mensurada indiretamente pela sua capacidade em controlar o grau de oxidação (ANTOLOVICH et al., 2002). Existem diversos métodos utilizados para estimar tanto a atividade antioxidante quanto o conteúdo de compostos fenólicos totais em uma substância, tais como métodos de fluorescência, de espectrofotometria de absorção visível, eletroquímicos, de quimioluminência e de determinação de potencial redox dos antioxidantes (HU; SKIBSTED, 2002)

Estudos têm demonstrado que a atividade antioxidante é significativamente influenciada pelo método de determinação, tornando difícil a comparação entre os dados da literatura. Por esse motivo, deve-se avaliar qual o melhor método de avaliação da atividade antioxidante apropriado para caso em particular (RUBERTO; BARATTA, 2000; DORMAN; DEANS, 2000; EL-GHORAB; MANSOUR; EL-MASSRY., 2004; MESOMO, 2013; LEE; SHIBAMOTO, 2001; LEE; SHIBAMOTO, 2002). Segundo Antolovich et al. (2002), o conteúdo de compostos antioxidantes pode ser influenciado pela estrutura química, método de extração utilizado, método de análise, seleção de

padrões, presença de interferentes (gorduras, clorofilas e terpenos), tamanho das partículas da amostra, tempo e condições de armazenamento.

Vários fatores podem determinar a solubilidade dos polifenóis, como tipo de solvente (polaridade), interação de fenólicos com outros componentes, grau de polimerização dos fenólicos e formação de complexos insolúveis. Dentre os solventes mais comumente utilizados na extração de compostos fenólicos estão o metanol, etanol, acetato de etila, propanol, dimetilformamida, acetona e água, além de suas combinações (ANTOLOVICH et al., 2002).

#### 3.3.1.1 Método de sequestro de radical livre DPPH

O método mais antigo utilizado para determinar a atividade antioxidante de substâncias naturais é o teste DPPH (2,2-diphenil-1-picrilhidrazil). Trata-se de um ensaio espectrofotométrico que considera a capacidade de reação entre os radicais livres DPPH e compostos antioxidantes (ROGINSKI; LISSI, 2005).

O DPPH é um radical livre estável devido à deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula, conferindo-lhe uma cor violeta, caracterizada por uma banda de absorção em etanol em aproximadamente 520 nm (MOLYNEUX, 2004). Basicamente, o método busca mensurar a capacidade antioxidante de uma substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o à hidrazina. Quando se adiciona uma substância que age como doador de átomos de hidrogênio à uma solução de DPPH, a produção de hidrazina é sinalizada pela mudança de coloração, de violeta à amarelo pálido (ALVES et al., 2010).

A atividade antioxidante (%AA), em percentual, corresponde à quantidade de DPPH consumida pela amostra. A quantidade de amostra necessária para causar uma redução de 50 % na concentração inicial de DPPH é denominada concentração eficiente ( $EC_{50}$ ). Portanto, quanto maior o consumo de DPPH por determinada amostra, menor será a  $EC_{50}$  e, por consequência, maior será a sua atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007).

### 3.3.1.2 Método de redução do complexo fosfomolibdênio

O método de redução do complexo fosfomolibdênio está baseado na redução de  $\text{Mo}^{+6}$  para  $\text{Mo}^{+5}$ , em meio ácido, pelo analito da amostra seguida da formação do composto fosfato  $\text{Mo}^{+5}$ , caracterizado pela cor verde. Os resultados são determinados a partir da leitura espectrofotométrica, no comprimento de onda de 695 nm. A solução teste no início possui coloração amarela, porém, a medida que a solução de fosfato de molibdênio se reduz, ela se torna verde. Este método foi aperfeiçoado e caracterizado em relação ao intervalo de linearidade, repetitividade, reprodutibilidade e coeficientes de absorção molar para a quantificação de diversos antioxidantes (PRIETO; PINEDA; AGUILAR, 1999).

### 3.3.1.3 Métodos para determinação de compostos fenólicos

Os métodos utilizados para avaliar a quantidade de compostos fenólicos totais e seu potencial antioxidante estão baseados na sua capacidade em agirem como agentes redutores e fornecedores de hidrogênio ou elétrons (HUANG; PRIOR, 2005). Existem vários métodos para essa determinação, sendo os mais comumente utilizados o de Folin-Denis e o de Folin-Ciocalteu (SALUNKHE; CHAVAN; KADAM, 1989). Em segundo plano, pode-se citar métodos como o de ferricianeto, descrito por Price e Butler em 1977, e o que faz uso de 4-aminoantipirina, fundamentado por Schoonen e Sales (2002).

Embora tenha-se algumas possibilidades, o método Folin-Ciocalteu é o método mais relevante e utilizado na determinação de compostos fenólicos presentes em extratos oriundos de plantas e sucos (STRATIL; KLEJDUS; KUBÁŇ, 2007). Este método foi desenvolvido em 1927 por Folin e Ciocalteu e posteriormente modificado por Singleton e Rossi no ano de 1999. A mudança aconteceu para transformar um método que, originalmente, era aplicado para análise de proteínas, em um que pudesse ser utilizado para determinar o conteúdo de fenólicos em vinhos (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

O método é relativamente simples, sensível e preciso. Está baseado em uma reação onde os compostos fenólicos são oxidados em meio básico, formando um radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ). Este radical reage com o molibdato, formando o óxido de molibdênio ( $\text{MoO}^{4+}$ ), caracterizado pela cor azul

(ROGINSKY; LISSI, 2005; HUANG; OU; PRIOR, 2005), cuja absorbância deve ser lida em 760 nm (STRATIL; KLEJDUS; KUBÁŇ, 2007).

### 3.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Os extratos e óleos essenciais de plantas são produtos de alto valor agregado, compostos de uma mistura complexa de substâncias que, em grande parte, são termodegradáveis. Sendo assim, a metodologia pode interferir de maneira negativa em aspectos como qualidade e composição dos extratos (SIMÕES et al., 1999).

Existem diversos métodos para extração de compostos de vegetais. Os mais tradicionais são a destilação a vapor, destilação a vácuo, hidrodestilação e com solventes orgânicos. No entanto, esses métodos possuem alguns pontos negativos, como alto consumo energético, grande volume de resíduos no extrato e degradação de substâncias termicamente sensíveis, devido à aplicação de altas temperaturas de extração e pela separação da mistura soluto-solvente (WANG et al., 2004).

Como alternativa aos métodos tradicionais, surge a extração utilizando fluido supercrítico. O estado supercrítico de um fluido empregado à extração (geralmente CO<sub>2</sub>) é alcançado através de mudanças na pressão e temperatura em que é submetido (LEAL et al., 2003; REHMAN; HABIB; SHAH, 2004).

#### 3.4.1 Extração por destilação por vapor d'água

Para a extração de óleos essenciais, o método mais utilizado é a destilação por vapor d'água. A destilação é um processo que está fundamentado na evaporação seguida da condensação de um determinado líquido. Isso acontece devido aos movimentos moleculares induzidos termicamente no interior do líquido em questão, resultando na ejeção de algumas moléculas para seu exterior, tornando possível o fluxo de vapor agir como transportador dessas moléculas. A liberação do óleo essencial contido em uma planta ocorre devido à ruptura da parede celular, provocada pelo aumento da pressão induzida pelo calor (BASER; BUCHBAUER, 2010).

Existem três variações da extração via destilação por vapor d'água. A diferenciação é feita pela maneira como ocorre o contato entre a água, esteja em estado líquido ou de vapor, e a amostra. A primeira é denominada de hidrodestilação, método onde a amostra permanece imersa na água de um recipiente; a segunda acontece pela ação do vapor da água colocada em ebulição e separada por uma tela; e a terceira ocorre por injeção direta de vapor no material contido em um cesto metálico (WILLIANS, 1996).

Dentre as três variações possíveis para este método, a mais simples é a hidrodestilação. Neste, o material vegetal absorve água durante o processo de ebulição e o óleo localizado nas células atravessa a parede celular por osmose. Em um segundo momento, o óleo é vaporizado e carregado pela corrente de vapor. A volatilidade dos componentes do óleo não sofre influência da taxa de vaporização, e sim do seu grau de solubilidade em água. Com isso, os componentes essenciais mais solúveis em água são recuperados mais facilmente (BASER; BUCHBAUER, 2010).

#### 3.4.2 Extração com solvente orgânico

A extração utilizando solventes foi desenvolvida para permitir um maior percentual de extração com a aplicação de temperaturas mais baixas. Em extrações deste tipo, o solvente atravessa um leito espesso de partículas dispostas de modo a facilitar o seu escoamento. Os compostos são separados pela sua transferência entre fases (sólido-líquido, líquido-líquido), a partir das diferenças em interações intermoleculares na fase líquida. Após determinado período de tempo, o suficiente para que haja a transferência dos componentes solúveis contidos na planta, é efetuada a separação das fases sólida e líquida. A obtenção do extrato acontece pela evaporação do solvente presente na fase líquida (WENNERSTEN, 1992; STEFFANI, 2003; CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010). O processo é composto por duas etapas: a primeira, simples e rápida, de dissolução; e a segunda, mais demorada, de difusão, que é considerada a etapa limitante. De maneira geral, tem-se uma extração com velocidade mais alta no início da extração, seguida de um decaimento. Na prática, esse tipo de extração não atinge uma remoção completa (MORETTO; FETT, 1998).

Dentre os métodos mais tradicionais de extração com solventes orgânicos, a técnica de Soxhlet é uma das mais utilizadas. Desenvolvida no ano de 1879, esta técnica é considerada padrão há mais de um século (CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010). O método está baseado no refluxo intermitente de solvente. Inicialmente, o solvente é aquecido, alcançando a fase de vapor e, em seguida, é condensado e cai em um cartucho de celulose onde está a amostra, enchendo-o lentamente. As substâncias a serem extraídas são solubilizadas até o preenchimento total do cartucho. Em seguida, a mistura solvente e extrato é refluxada via sifão para o balão onde, inicialmente, estava o solvente. A partir deste ponto, o processo se repete até a completa retirada de extrato (CAMPOMANES, 2012). Há uma gama considerável de solventes aplicados para este método, os mais utilizados são os álcoois (etanol e metanol), hidrocarbonetos alifáticos (n-hexano e éter de petróleo), cetonas (acetona e metiletilcetona), ácido acético, acetato de etila, éter etílico e água (SIMÕES et al., 1999).

A extração baseada na técnica de Soxhlet possui algumas vantagens como contato repetido entre amostra e solvente, sem necessidade de filtração ao término do processo e a possibilidade de realizar extrações simultâneas, devido ao baixo custo do equipamento (CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Embora seja uma técnica muito utilizada para a extração de compostos orgânicos, a extração por solventes possui muitas desvantagens. Geralmente, os solventes clássicos são pouco seletivos e sua eliminação aumenta os custos energéticos e os riscos de perdas de compostos voláteis (MESOMO, 2013). Além disso, o tempo de extração pode ser considerado uma restrição, pois pode variar de 1 a 72 horas (MIGUEL; ANDRADE, 1989).

### 3.4.3 Extração com fluido supercrítico

A extração com fluido supercrítico é um processo de separação onde as substâncias são dissolvidas em um fluido que possui a capacidade de alterar o seu poder de dissolução em condições acima da sua pressão e temperatura críticas, isto é, na região supercrítica (RAVENTÓS; DUARTE; ALARCÓN, 2002).



Tratada como alternativa às técnicas tradicionais, a extração utilizando fluido supercrítico tem sido aplicada para obtenção de extratos de plantas com alto valor agregado, tanto no meio acadêmico como no industrial, com destaque aos setores de alimentos, fármacos e cosméticos (QUISPE-CONDORI et al., 2005). Este método é, sob diversas perspectivas, mais vantajoso quando comparado às demais técnicas de extração mais comuns, pois é um processo com maior flexibilidade devido à possibilidade de ajuste de maneira contínua de alguns parâmetros. É possível controlar o poder de solvatação e seletividade do solvente; o processo não exige a eliminação do solvente após o processamento; para alguns casos, quando os solventes possuem temperatura crítica baixa, a degradação térmica e a decomposição de compostos termolábeis são evitadas, em razão da baixa temperatura de operação; e ainda impede a ocorrência de reações de oxidação, pelo processo acontecer na ausência de luz e oxigênio (DIAZ-REINOSO, et al., 2006; REVERCHON; DE MARCO, 2006). Pereira et al. (2004), definem como principais vantagens da extração supercrítica a facilidade na remoção do solvente do extrato final, a alta seletividade e a utilização de temperaturas moderadas.

Por definição, um fluido supercrítico é qualquer substância cuja pressão e temperatura estejam acima de sua pressão crítica (maior pressão onde um gás pode ser convertido em líquido pelo aumento de temperatura) e temperatura crítica (maior temperatura na qual um líquido pode ser convertido em gás por aumento de pressão) (HEDRICK; MULKAHEY; TAYLOR, 1992). A Figura 2 representa um diagrama de fases, onde estão definidas as áreas onde uma substância pura existe como líquido, gás, sólido ou fluido supercrítico. As curvas que separam os estados representam as condições (pressão e temperatura) nas quais duas fases coexistem em equilíbrio. Essas curvas se encontram em um ponto denominado ponto triplo, onde as três fases coexistem. A medida em que a pressão e temperatura aumentam ao longo da curva de vaporização (onde gás e líquido estão em equilíbrio), o gás fica mais denso, devido ao aumento de pressão, e o líquido torna-se menos denso, resultado da expansão térmica. No ponto crítico as densidades das duas fases convergem, não havendo diferença entre gás e líquido (CARVALHO JUNIOR, 2004). A pressão crítica de um gás é a pressão acima àquela em que o gás é impedido de ser liquefeito via resfriamento isobárico. De maneira análoga, a temperatura crítica de um gás é

a temperatura acima àquela onde o gás não pode ser liquefeito via compressão isotérmica (STEFFANI, 2003).

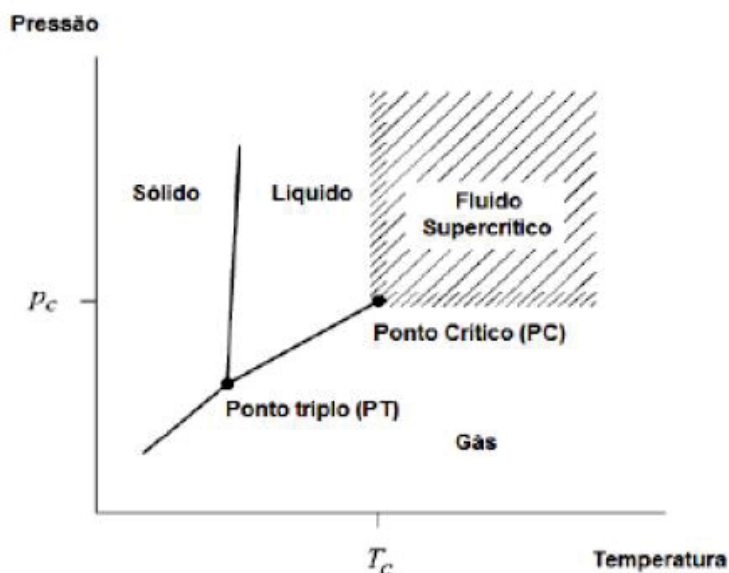


FIGURA 2- DIAGRAMA DE FASES DE UMA SUBSTÂNCIA PURA.  
FONTE: BRUNNER (1994)

Para a extração de produtos de origem vegetal é utilizado um extrator de leito fixo composto pelo material sólido. Na parte inicial do processo de extração, o solvente puro é alimentado no extrator que, por sua vez, se distribui uniformemente no interior do leito fixo formado de partículas sólidas. A matriz sólida absorve o solvente, sofrendo dilatação em suas células e canais intercelulares, o que implica na diminuição da resistência à transferência de massa. Simultaneamente, acontece a dissolução dos compostos e a transferência de massa por meio de difusão do interior da matriz para a sua superfície. A transferência de massa do sólido para o fluido acontece pelo escoamento do solvente através da matriz vegetal. A extração ocorre em regime transiente, pois o leito se mantém fixo e a concentração de óleo no fluido varia de acordo com o tempo e posição (RIBAS et al., 2014). A extração com fluido supercrítico acontece de forma similar.

Existe uma série de requisitos a ser atendida para realizar a escolha de um solvente para extrações com fluido comprimido ou supercrítico, tais como: possuir bom poder de solvatação, ser inerte ao produto, ser facilmente separado do produto, ter pressão crítica baixa por razões econômicas, entre outros

(COELHO, 2015). Há uma ampla gama de compostos que podem ser aplicados à extração supercrítica (HIERRO, 1994). Na Tabela 2, podem ser visualizados alguns exemplos de fluidos que podem ser utilizados em extrações supercríticas, juntamente com suas pressões e temperaturas críticas.

TABELA 2 - PRINCIPAIS SOLVENTES UTILIZADOS NA EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA

Substância	T <sub>c</sub> (°C)	P <sub>c</sub> (Mpa)
<b>CO<sub>2</sub></b>	<b>31</b>	<b>7,29</b>
Água	374	21,72
Metano	-82	4,54
Etano	32	4,82
<b>Propano</b>	<b>97</b>	<b>4,19</b>
Pentano	197	3,33
Etileno	9	4,97
Tolueno	319	4,06
<b>Metanol</b>	<b>240</b>	<b>7,99</b>
Etanol	241	6,06
Acetona	235	4,64
Éter etílico	194	3,59

FONTE: HIERRO (1994).

Dos compostos descritos na Tabela 2, o propano e o CO<sub>2</sub> são frequentemente utilizados. O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é o solvente mais utilizado na extração supercrítica por possuir uma baixa temperatura crítica e uma pressão crítica moderada (31 °C e 72,8 atm). Essas características tornam o CO<sub>2</sub> ideal para matrizes termolábeis, tendo ainda os benefícios de não causar problemas ambientais, baixo custo e ser atóxico (BRUNNER, 1994; RIBAS et al., 2014). Além disso, esse composto é inerte, não inflamável e não prejudicial à saúde quando inalado em baixas concentrações, podendo ser empregado no setor industrial. Possui um amplo conjunto de propriedades de solvência para compostos apolares e tem se mostrado uma opção viável na extração de matérias primas naturais, principalmente nas indústrias farmacêutica e de alimentos (WAGNER; PAVLÍCEK, 1993). O momento quadripolar da molécula de CO<sub>2</sub> permite a dissolução de compostos com polaridade moderada, como álcoois, aldeídos, cetonas e éteres (FREITAS et al., 2008).

De acordo com estudos, o propano surge como uma possibilidade para a extração de produtos naturais, mesmo não apresentando todos os benefícios do CO<sub>2</sub>. Quando comparado com o CO<sub>2</sub>, o propano comprimido tem se mostrado um solvente de qualidade superior, em termos de rendimento de extração, para diversas substâncias contidas em óleos e produtos naturais (FREITAS et al., 2008; RIBAS et al., 2014). O propano não deixa resíduo tóxico e apresenta pressão e temperatura críticas baixas. Na perspectiva econômica, processos que utilizam de pressões e temperaturas baixas implicam em menor custo de operação, uma vez que pode-se alcançar um maior rendimento em menor tempo (ILLÉS et al, 2000; HEGEL et al., 2007; FREITAS et al., 2008; PEDERSSETI, 2008). Além disso, o propano apresenta maior solubilidade de compostos apolares quando comparado com o CO<sub>2</sub> (COELHO, 2015).

Geralmente, curvas de extração são construídas para descrever o comportamento cinético do processo de extração, representadas por um gráfico de tempo de extração versus massa de extrato acumulada, com vazão de solvente constante. O comportamento da curva é afetado pelos parâmetros de processo e pelos fenômenos que ocorrem no leito fixo durante a extração, tais como tamanho das partículas que compõem o leito e vazão do solvente. Portanto, a comparação entre curvas obtidas de matérias-primas diferentes a partir de equipamentos distintos é limitada. Entretanto, considerando mesmo material e equipamento, as curvas são altamente úteis para comparação do desempenho do processo (BRUNNER, 1994).

As curvas de extração podem ser divididas em três etapas (Figura 3):

- I. Etapa com taxa constante de extração (CER): onde a superfície externa das partículas está inteiramente coberta por uma fina camada de extrato, proporcionada pela ruptura das células da matriz durante o processo de moagem. Nesta etapa o mecanismo dominante é a convecção e, por isso, a resistência à transferência de massa está na fase fluida. Esta etapa é responsável por aproximadamente 50 % do rendimento total do processo.
- II. Etapa com taxa decrescente de extração (FER): a camada de extrato sobre a superfície da matriz é mais fina, diminuindo a área efetiva de transferência de massa, isto é, a taxa de transferência deixa de ser constante. Ao fim desta etapa o rendimento corresponde a cerca de 70 % do total.

- III. Etapa difusional: período onde a transferência de massa é controlada pela difusão, pois as partículas da matéria-prima já não possuem extrato em sua superfície, restando apenas a alíquota armazenada no interior das células não quebradas ou no sólido poroso (FERREIRA; MEIRELES; CABRAL, 1993; BRUNNER, 1994; FERREIRA et al., 1999).

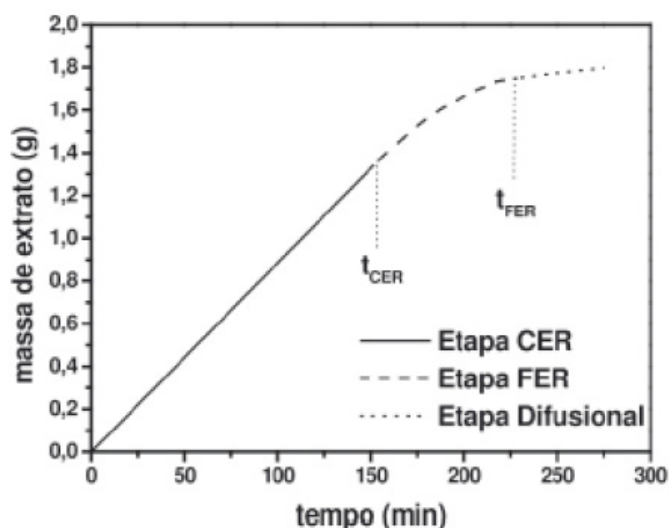


FIGURA 3- CURVA TÍPICA DE EXTRAÇÃO COM A REPRESENTAÇÃO DAS TRÊS ETAPAS DO PROCESSO.

FONTE: MARTÍNEZ (2005)

As curvas de extração podem ser utilizadas como referência para a escolha de parâmetros de processo como tempo de extração, determinação da solubilidade, caracterização das etapas de extração supercrítica e modelagem da transferência de massa do processo (SILVA, 2004).

As principais desvantagens da extração usando fluidos supercríticos residem na periculosidade da operação, resultado da aplicação de altas pressões, e dos custos relativamente elevados de implantação e operação. No entanto, a análise econômica da construção e manutenção deste processo deve ser mais profunda, considerando principalmente que o produto possui qualidade e valor agregado mais elevados frente os demais. A qualidade superior dos extratos obtidos por extração supercrítica é devida à sua composição mais fiel em relação à planta extraída (STEFFANI, 2003).

O método de extração via fluidos supercríticos vem sendo utilizado na indústria de alimentos, sendo aplicado principalmente na obtenção de vitaminas, bebidas sem álcool, bebidas descafeinadas, batata frita desengordurada,

encapsulamento de temperos, arroz parboilizado por CO<sub>2</sub> e na remoção de pesticidas (BRUNNER, 2005).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 PREPARO DA MATÉRIA PRIMA

As raízes de bardana (9,90 kg), adquiridas de um produtor da cidade Ivaiporã, Paraná, Brasil (localização de GPS: 24°14'47,4" S; 51°40'32,8" O) no mês de agosto de 2016, foram lavadas e levemente trituradas com o auxílio de um multiprocessador de alimentos comercial (Philips Walita, Brasil). Em seguida, as raízes foram secas em estufa de circulação de ar sob uma temperatura de 50 ± 2 °C por 22 h. As raízes secas (1,69 kg) foram novamente trituradas por meio de um liquidificador comercial (Philips Walita, Brasil) e separadas através de peneiras da série Tyler (Bertel, Brasil) com aberturas de 9, 12, 14, 28, 35 e 48 mesh, auxiliado por um agitador mecânico (Produtest, São Paulo, Brasil), ajustado na escala de vibração 5 durante 10 min. O diâmetro médio das partículas foi estimado pelo método apresentado por Gomide (1983), considerando as frações mássicas do material retido nas peneiras, como pode ser visualizado na Tabela 3.

TABELA 3 - DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA DA RAÍZ DE BARDANA TRITURADA

Mesh	Quantidade retida (g)	%
9	770,55	47,3
12	303,39	18,6
14	80,75	5,0
28	335,83	20,6
35	69,97	4,3
48	67,73	4,2

A fração mássica que atravessa todas as peneiras é denominada “fundo” e correspondeu a 3,7 % da massa total. Esta porção é caracterizada por possuir uma baixa granulometria (pó) e foi descartada para evitar o entupimento na saída

do extrator, durante a extração com fluido pressurizado. Após classificadas, as frações mássicas foram misturadas novamente e embaladas em sacos de polietileno de baixa densidade, fechadas com seladora à vácuo e armazenadas sob temperatura de  $-5 \pm 2$  °C até a realização das extrações.

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

### 4.2.1 Umidade residual

Para a determinação do teor de água residual presente na amostra após o processo de secagem foi utilizado o método de destilação com tolueno em triplicata, conforme com AOCS (1994). Foram utilizadas 10 g da matéria prima moída adicionadas de 125 mL de tolueno em um balão de fundo redondo com volume de 500 mL. O balão, já acoplado à um destilador tipo Clevenger, foi submetido a aquecimento por meio de uma manta térmica à  $100 \pm 5$  °C até que toda a água da matriz fosse retirada. O aquecimento foi mantido até o total esgotamento da água, processo que durou aproximadamente 60 min. O destilado composto por duas fases (água e tolueno) foi coletado em frascos graduados e o volume da fase aquosa medido.

A umidade residual do material foi calculada através da Equação 1.

$$U = \left( \frac{V_w \cdot \rho_w}{m} \right) \cdot 100 \quad (1)$$

Sendo  $U$  a umidade residual do material em porcentagem,  $V_w$  o volume da fase aquosa;  $\rho_w$  a densidade da água e  $m$  a massa da amostra.

### 4.2.2 Diâmetro médio das partículas

O cálculo para a determinação do diâmetro médio das partículas foi realizado de acordo com o proposto por Gomide (1983), utilizando as Equações



2 e 3. Este procedimento considera as frações mássicas retidas nas peneiras da série Tyler utilizadas, neste caso 9, 12, 14, 28, 35 e 48 mesh.

$$\bar{d}_s = \sqrt{\frac{\sum_i^n \frac{\Delta l_i}{d_i}}{\sum_i^n \frac{\Delta l_i}{d_i^3}}} \quad (2)$$

$$\Delta l_i = \frac{m_i}{M} \quad (3)$$

Em que  $d_s$  é o diâmetro médio superficial das partículas em cm,  $m_i$  é a massa retida na peneira em g,  $M$  é a massa total da amostra em g,  $n$  é o número total de peneiras utilizadas e  $\Delta l_i$  a fração mássica retida na peneira.

#### 4.2.3 Densidade aparente e real

A densidade aparente (Equação 4) foi calculada com base no volume total da célula de extração e massa total de raízes de bardana seca e moída necessária para preenchê-la.

$$\rho_a = \frac{m_a}{V_{leito}} \quad (4)$$

Onde  $\rho_a$  é a densidade aparente,  $m_a$  é a massa inicial, em g, adicionada ao leito de extração e  $V_{leito}$  é o volume total da célula de extração.

A densidade real foi realizada pelo Instituto de Química da Universidade de Campinas (UNICAMP), Campinas-SP, Brasil, utilizando a técnica de picnometria em gás hélio.

#### 4.2.4 Porosidade do leito de partículas

A porosidade total do leito de partículas foi determinada utilizando as densidades aparente e real, conforme a Equação 5.

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (5)$$

Sendo  $\varepsilon$  a porosidade,  $\rho_a$  a densidade aparente e  $\rho_r$  a densidade real das raízes de bardana secas e trituradas.

#### 4.3 EXTRAÇÃO COM SOLVENTE ORGÂNICO

A obtenção dos extratos etéreo, etanólico e metanólico das raízes de bardana foram determinadas em triplicata pela extração em Soxhlet usando éter etílico, etanol e metanol a 34,6, 78 e 64,7 °C, respectivamente, seguida da remoção do solvente em estufa com circulação de ar. Aproximadamente 5 g de raízes secas de bardana foram submetidas ao processo de extração em Soxhlet por 6 h, de acordo com o que é apresentado pela AOAC (1999). Os rendimentos das extrações em Soxhlet foram calculados a partir da Equação 6.

$$R = \frac{(P_f - P_i)}{m} \cdot 100 \quad (6)$$

Onde  $R$  é o rendimento da extração,  $P_f$  é a massa do balão volumétrico após o fim da extração e já desprovido de solvente,  $P_i$  é a massa do balão volumétrico antes do início da extração e  $m$  é a massa da amostra.

#### 4.4 EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO

A extrações foram realizadas em uma unidade de extração supercrítica de escala laboratorial,  $L = 0,22$  m,  $\phi = 1,90 \times 10^{-2}$  m e  $6,24 \times 10^{-5}$  m<sup>3</sup> de volume interno (Universidade Federal do Paraná, UFPR, Brasil, Laboratório de Cinética e Termodinâmica Aplicada, LACTA), com controles de temperatura e pressão, conforme o descrito por Mesomo et al. (2012) e Pereira et al. (2017). O sistema de extração é composto por um extrator encamisado, válvula agulha para controle de fluxo na saída do extrator, bomba de alta pressão tipo seringa (Teledyne ISCO 500D), sensores de pressão, cilindro de solvente, além de banhos ultratermostatizados para controle de temperatura do extrator e da bomba. Na Figura 4 está apresentado um diagrama esquemático da unidade de extração utilizada para realizar extrações com fluidos supercríticos ou pressurizados.

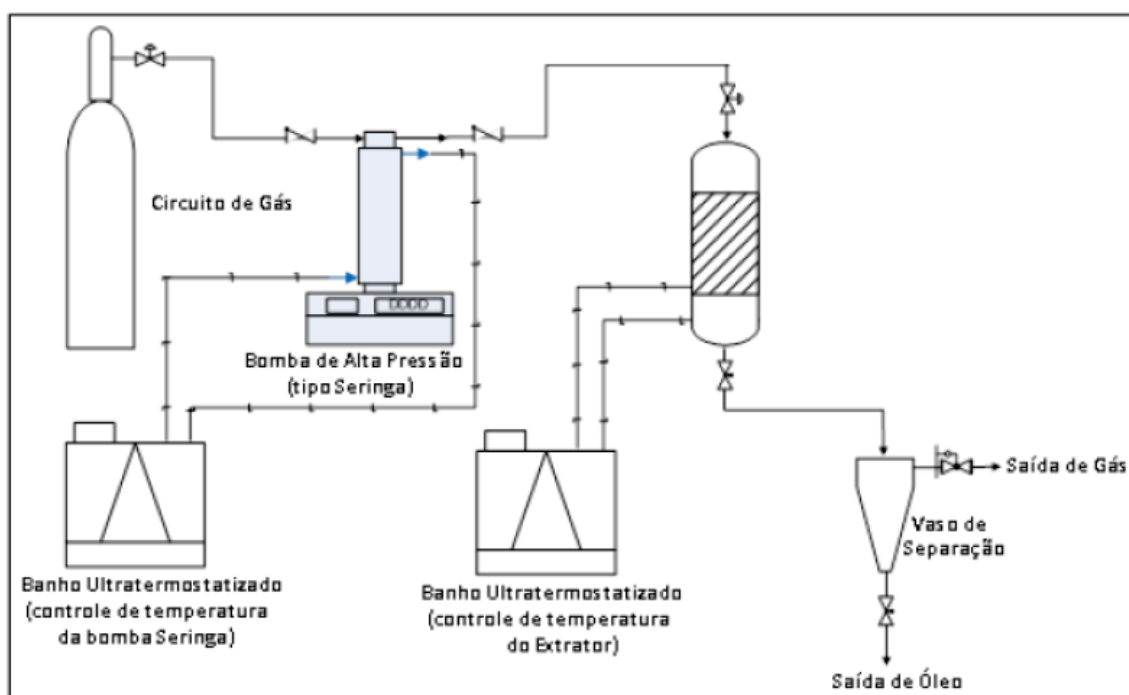


FIGURA 4- DIAGRAMA DO APARATO EXPERIMENTAL MONTADO EM ESCALA DE LABORATÓRIO PARA A OBTENÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS UTILIZANDO FLUIDO PRESSURIZADO COMO SOLVENTE.

FONTE: MESOMO (2013).

Inicialmente, as cinéticas das extrações com fluido supercrítico foram realizadas usando scCO<sub>2</sub> (White Martins S. A., 99,5% de pureza na fase líquida)

como solvente. Buscando maximizar os rendimentos das extrações, o metanol foi utilizado como cossolvente devido à alta eficiência apresentada em testes preliminares realizados no aparato de Soxhlet. Para as extrações executadas apenas com o scCO<sub>2</sub>, o extrator foi carregado com aproximadamente 25 g de raízes de bardana, formando um leito fixo. Nas extrações com cossolvente, inicialmente, 25 g de metanol foram misturados à 25 g de matéria-prima seca (proporção de 1:1 entre massa de metanol e massa de amostra) e, em seguida, o material umedecido foi carregado no extrator para a realização do procedimento. A proporção da mistura metanol-sólidos (matéria-prima) foi variada de 0,5:1 a 4:1. Os experimentos foram executados nas temperaturas de 40, 60 e 80 °C e pressões de 10, 15 e 20 Mpa. Todas as extrações foram realizadas em fluxo constante de  $2,0 \pm 0,2 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$  considerando 60 min de período de confinamento da amostra na câmara de extração. As amostras de extrato de raiz de bardana foram coletadas em frascos âmbar, previamente secos e pesados, em intervalos de 2 min, totalizando 20 min de processo. Uma extração em condições intermediárias de operação ( $P = 15 \text{ MPa}$  e  $T = 60 \text{ °C}$ ) foi executada considerando um período de confinamento de 120 min a fim de avaliar a influência deste parâmetro sobre o processo. Para avaliar os efeitos do tipo de solvente, um teste foi realizado usando propano comprimido com adição de metanol na proporção mássica de 2:1 entre metanol e sólidos a 5 MPa e 60 °C seguindo o mesmo procedimento usado nas extrações com scCO<sub>2</sub>.

## 4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

### 4.5.1 Composição química

A determinação da composição química foi realizada no Laboratório Multiusuário de Cromatografia, Centro de Ciências Moleculares e Nanotecnologia (CCMN), da Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO por cromatografia em fase gasosa com espectrômetro de massa (GC-MS) (Agilent 7890A e Agilent 5975C) equipado com uma coluna capilar não polar (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, 5 % fenil/ 95 % dimetilpolisiloxano) usando hélio como gás de arraste (White Martins Gases Industriais, 99,9 % de pureza)

com um volume de injeção de 1,0 µL. Alíquotas dos extratos foram dissolvidas em metanol até a concentração de 20 mg.mL<sup>-1</sup>. A temperatura inicial da coluna foi fixada em 50 °C por 1 min e, em seguida, elevada à uma taxa de 6 °C.min<sup>-1</sup> até alcançar 200 °C, mantida por mais 1 min. Em seguida a temperatura foi aumentada até 300 °C à taxa de 10 °C.min<sup>-1</sup>. O espectrômetro de massa foi programado para realizar a varredura de 40,0 até 600,0 m.z<sup>-1</sup>. O injetor foi ajustado à temperatura de 200 °C. As temperaturas de quadrupólo e de fonte foram de 230 °C e 150 °C, respectivamente. A preparação das amostras para a injeção foi realizada pela diluição simples (1:10) dos extratos de raiz de bardana em metanol. A análise foi executada em modo *splitless* (sem fracionamento) e totalizou 35 min para cada amostra. Os compostos foram identificados baseado no banco de dados da biblioteca da NIST-11 pela comparação dos índices de retenção (IRs) com as séries homólogas de n-alcanos (C8-C40) e com dados de MS da literatura (THE PHEROBASE, 2017; CHEMSPIDER, 2017; ABOUTABLA; EL-TANTAWY; SHAMS, 2013). Como forma alternativa, foi utilizado o software AMDIS (Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System). Os valores encontrados na literatura referentes aos compostos foram comparados com os valores obtidos por meio da Equação 7.

$$IR_x = 100y + 100(z - y) \frac{t(r)x - t(r)y}{t(r)z - t(r)y} \quad (7)$$

Onde  $y$  é o número de carbonos do padrão à esquerda do pico do composto avaliado,  $z$  é o número de carbonos do padrão à direita do pico do composto avaliado,  $t(r)x$  é o tempo de retenção do composto de interesse,  $t(r)y$  é o tempo padrão de retenção (min) à esquerda e o  $t(r)z$  o tempo padrão de retenção (min) à direita.

#### 4.5.2 Determinação do conteúdo fenólico total

O conteúdo fenólico total dos extratos de raiz de bardana foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu como descrito por Singleton e Rossi (1965). A

mistura usada para a reação é composta por 0,1 mL de solução etanólica do extrato ( $6 \text{ mg.mL}^{-1}$ ), 7,9 mL de água destilada, 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (composto por fosfomolibdato e fosfotungstato) e 1,5 mL de carbonato de sódio 20%. Essa mistura foi adicionada em frascos opacos que foram posteriormente agitados e mantidos em privação de luz por 2 h. As absorbâncias foram mensuradas por meio de um espectrofotômetro (Bel Photonics, SP 2000 UV) no comprimento de onda de 765 nm. O conteúdo fenólico total foi calculado através de uma curva analítica construída com ácido gálico como padrão. Os resultados foram expressos como  $\text{mg}_{\text{GAE.g}}$  de extrato<sup>-1</sup>.

#### 4.5.3 Avaliação da atividade antioxidante total

A avaliação da atividade antioxidante total foi realizada seguindo o procedimento descrito por Mensor et al (2001), usando 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) como composto reagente. Inicialmente, foram preparadas soluções estoque de extrato de raiz de bardana diluído em etanol ( $5 \text{ mg.mL}^{-1}$ ). Em seguida, essa solução foi novamente diluída em etanol em concentrações finais que variaram de 0,2 à  $1,2 \text{ mL.mL}^{-1}$ . Alíquotas (2,5 mL) de cada concentração da solução final de extrato foram transferidas à tubos e adicionadas, em privação de luz, de 1 mL de solução etanólica de DPPH (0,3 mM). As absorbâncias dessas soluções foram lidas em 518 nm e utilizadas para estimar a atividade antioxidante total. As análises foram executadas em triplicata e atividade antioxidante (AA) foi calculada pela Equação 8.

$$AA(\%) = 100 - \left\{ \frac{[(abs_{am} - abs_{bco}) \times 100]}{abs_{ctrl}} \right\} \quad (8)$$

Onde  $abs_{am}$  é a absorbância das soluções de extrato de raiz de bardana,  $abs_{bco}$  é absorbância da solução branco (2,5 mL da diluição + 1 mL de etanol) e  $abs_{ctrl}$  é absorbância do da solução controle (2,5 mL de etanol + 1 mL de solução DPPH).

A atividade antioxidante total foi expressa como concentração eficiente ( $EC_{50}$ ) definida como a concentração de extrato necessária para inibir a produção de radicais em 50%.

#### 4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando o software Statistica 7.0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA) e cada resultado foi avaliado independentemente. O teste de Tukey foi utilizado considerando um  $p$ -valor menor que 0,05 ( $p < 0,05$ ) como estatisticamente significativo para avaliar as diferenças entre as médias.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 RENDIMENTOS DAS EXTRAÇÕES

As raízes de bardana apresentaram umidade inicial de 83,1 % e, após o processo de secagem, esta foi reduzida para  $6,5 \pm 0,5$  %. O leito de extração foi formado por  $25,0 \pm 0,2$  g de raízes de bardana secas e moídas com diâmetro médio de partícula de  $5,57 \times 10^{-4}$  m. A densidade aparente do leito foi de 140,58 kg.m<sup>-3</sup>, enquanto a densidade real foi de 1500 kg.m<sup>-3</sup>, resultando em uma porosidade de 0,94. Para as extrações usando metanol como cossolvente, as proporções mássicas entre massa de solvente e massa de bardana foram aproximadamente: (4:1) 40 g de metanol para 10 g de sólidos, (2:1) 30 g de metanol para 15 g de sólidos, (1:1) 25 g de metanol para 25 g de sólidos e (0,5:1) 12,5 g de metanol para 25 g de sólidos.

Na Tabela 4 podem ser visualizadas as condições experimentais e rendimentos das extrações por Soxhlet (S1, S2 e S3) e das extrações usando scCO<sub>2</sub> variando a pressão, temperatura e a proporção entre massa de metanol e massa de raiz de bardana. Além disso, há também as condições aplicadas para a extração usando propano comprimido com metanol como cossolvente e o rendimento associado. O rendimento da extração realizada por Soxhlet usando metanol foi tomado como referência para calcular a porcentagem de extração (%) para as demais condições. Os rendimentos das extrações foram calculados como sendo a razão entre massa de material extraído e massa de material seco adicionado ao extrator, multiplicada por 100. Os resultados das extrações com solvente comprimido apresentados na Tabela 4 foram obtidos em um período fixo de extração (20 min) para viabilizar a comparação entre os resultados sob as diferentes condições de processo.



As extrações em Soxhlet realizadas com a utilização de metanol como solvente (S3 na Tabela 4), apresentaram o maior rendimento ( $14,7 \pm 0,39 \%$ ), enquanto as extrações com etanol e éter etílico tiveram rendimentos de  $4,21 \pm 0,34 \%$  e  $0,81 \pm 0,26 \%$ , respectivamente. As variações de rendimento apresentadas nas extrações em Soxhlet indicam que as raízes de bardana contém um elevado número de compostos polares, já que a extração clássica usando éter etílico alcançou um rendimento inferior a 1 %, valor bem abaixo dos alcançado com solventes polares (etanol e metanol). A superioridade do metanol em relação ao etanol em termos de rendimento é devido a sua polaridade mais acentuada, que pode ser confirmada pela diferença entre constantes dielétricas dos solventes, 33 (metanol) e 24 (etanol) (REICHARDT, 2003), o que significa que o metanol consegue formar ligações de hidrogênio mais fortes quando comparado com o etanol, o que resulta em um maior poder de solvatação de compostos polares.

Um teste preliminar foi realizado usando  $\text{scCO}_2$  nas condições de  $40^\circ\text{C}$  e 20 MPa (Extração 0) e demonstrou que o  $\text{scCO}_2$  puro não foi capaz de recuperar qualquer material das raízes de bardana nestas condições de extração. Buscando confirmar esse resultado, foi considerado um período de extração de 180 min, no entanto, esta mudança não promoveu melhores resultados. Portanto, o metanol associado ao  $\text{scCO}_2$  foi tomado como alternativa para melhorar os rendimentos das extrações, devido a sua excelente performance observada nas extrações por Soxhlet.

TABELA 4 – CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS E RESULTADOS DOS RENDIMENTOS PARA AS EXTRAÇÕES DE RAÍZ DE BARDANA

Extração	Solvente	P (MPa)	T (°C)	Proporção mássica metanol-sólidos <sup>c</sup>	Densidade CO <sub>2</sub> (kg m <sup>-3</sup> ) <sup>d</sup>	Tempo de extração (min)	Rendimento <sup>a</sup> (%)**	Porcentagem de extração <sup>b</sup> (%)
S1	Éter etílico #	-	34,6	-	-	360	0,81 <sup>g</sup> (± 0,26)	5,51
S2	Etanol #	-	78,0	-	-	360	4,21 <sup>f</sup> (± 0,34)	28,66
S3	Metanol #	-	64,7	-	-	360	14,69 <sup>a</sup> (± 0,39)	100,00
0	CO <sub>2</sub>	20	40,0	-	839,81	180	< 0,01	
1	CO <sub>2</sub> + metanol	10	40,0	1:1	628,61	20	1,46 <sup>g</sup> (± 0,18)	9,94
2	CO <sub>2</sub> + metanol	10	80,0	1:1	221,60	20	6,97 <sup>bcd</sup> (± 0,82)	45,45
3	CO <sub>2</sub> + metanol	20	40,0	1:1	839,81	20	1,20 <sup>g</sup> (± 0,15)	8,17
4	CO <sub>2</sub> + metanol	20	80,0	1:1	593,89	20	8,25 <sup>bc</sup> (± 0,10)	56,16
5	CO <sub>2</sub> + metanol	15	60,0	1:1	604,09	20	1,97 <sup>g</sup> (± 0,18)	13,41
6	CO <sub>2</sub> + metanol	15	60,0	1:1*	604,09	20	6,51 <sup>cde</sup> (± 0,75)	44,32
7	CO <sub>2</sub> + metanol	15	60,0	0.5:1	604,09	20	0,92 <sup>g</sup> (± 0,64)	6,26
8	CO <sub>2</sub> + metanol	15	60,0	2:1	604,09	20	5,5 <sup>def</sup> (± 0,47)	37,44
9	CO <sub>2</sub> + metanol	15	60,0	4:1	604,09	20	7,91 <sup>bc</sup> (± 0,01)	52,62
10	CO <sub>2</sub> + metanol	20	80,0	2:1	593,89	20	6,98 <sup>bcd</sup> (± 0,42)	47,52
11	CO <sub>2</sub> + metanol	20	80,0	4:1	593,89	20	5,12 <sup>ef</sup> (± 0,30)	34,85
12	Propano + metanol	5	60,0	2:1	446,36	20	8,41 <sup>b</sup> (± 0,58)	57,25

# Extrações realizadas com o aparato de Soxhlet.

<sup>a</sup>(Massa de extrato pela massa de material seco alimentado) × 100.<sup>b</sup>(Massa de extrato obtido ao final do tempo total de extração pela massa extraída com Soxhlet usando metanol) × 100.<sup>c</sup>Proporção entre massa de metanol e massa de matéria-prima (bardana).<sup>d</sup>Densidades do CO<sub>2</sub> e propano (LINSTROM; MALLARD, 2012).

\*Extração realizada considerando 2 h de tempo de extração estáticas (tempo de confinamento).

\*\*Valores com a mesma letra ao longo da mesma coluna não são diferentes significativamente ( $p < 0.05$ )

As extrações 1 a 5 se referem ao planejamento fatorial  $2^3$  com triplicata para todas as condições e foram realizadas para avaliar o efeito da temperatura e pressão considerando uma proporção fixa de 1:1 entre massa de metanol e massa de sólidos. Nessas condições ambos os fatores foram estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ). Em seguida, foram realizados experimentos adicionais aumentando o período de confinamento para 120 min (Extração 6) e variando a proporção entre massa de metanol e massa de raiz de bardana (Extrações 7 a 11) para avaliar o efeito do metanol sobre a eficiência da extração. Por fim, foi realizado um experimento usando propano comprimido a 5 MPa e 60 °C com uma proporção de 2:1 entre massa de metanol e massa de sólidos (Extração 12).

A partir dos resultados apresentados na Tabela 4 é possível notar que o metanol somado ao solvente pressurizado proporcionou uma melhor performance em termos de rendimento se comparado com a extração realizada com  $\text{scCO}_2$  puro, com uma diferença superior à 8 %. Mesmo assim, esses rendimentos são inferiores aos obtidos com a extração em Soxhlet. Porém, é importante mencionar que o volume de metanol usado nas extrações com  $\text{scCO}_2$  é muito menor que o volume utilizado nas extrações em Soxhlet. Além disso, os resultados para rendimentos de extração com a mistura de solventes ( $\text{scCO}_2$  + metanol) são alcançado em um tempo de processo consideravelmente mais curto. Em extrações pressurizadas usando a matéria-prima umedecida por um solvente orgânico (metanol, neste caso), o  $\text{scCO}_2$  age como um transportador para o solvente orgânico, minimizando a resistência à transferência de massa e melhorando o contato entre os solutos e o solvente. Como resultado é possível obter altas taxas de extração e bons rendimentos usando pequenas quantidades de solvente orgânico em um processo assistido por  $\text{scCO}_2$ .

Considerando as extrações realizadas usando metanol na proporção de 1:1 em relação à massa de sólidos (Extrações 1-5, Tabela 4), o rendimento mais alto ( $8,25 \pm 0,10$  %) foi obtido à 20 MPa e 80 °C, correspondente às condições mais elevadas de pressão e temperatura testadas. Esse resultado não foi significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) do rendimento obtido a 15 MPa, 60°C e proporção de 4:1 entre massa de metanol e massa de raiz de bardana. Isso mostra que é possível alcançar altos rendimentos de extração minimizando a quantidade de metanol, além de usar condições mais baixas de pressão e

temperatura. Por outro lado, o rendimento mais baixo ( $1,20 \pm 0,15 \%$ ) foi observado na condição mais baixa de temperatura ( $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e 20 MPa, mostrando a importância da temperatura neste tipo de processo, conforme disposto na Tabela 4.

O desempenho da extração a pressão constante é principalmente afetado pela temperatura através de dois mecanismos. O aumento da temperatura promove um aumento na solubilidade devido ao aumento de pressão de vapor do soluto ou uma diminuição da solubilidade devido à redução da densidade do solvente (CARERI et al., 2001). A 10 MPa, foi observado que o aumento da temperatura promoveu uma melhora significativa no rendimento da extração ( $p < 0,05$ ) devido ao aumento na solubilidade dos solutos no metanol. O mesmo comportamento foi verificado a 20 MPa, onde um melhor desempenho foi notado em resposta ao aumento de temperatura. Esses resultados confirmaram o efeito positivo e mais acentuado da temperatura em relação à pressão sobre este processo de extração.

A  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  foi observado que não houve uma melhora significativa ( $p < 0,05$ ) na performance da extração com o aumento da pressão de 10 para 20 MPa. Essa melhora no desempenho da extração ocorreu devido ao transporte de massa mais eficiente do metanol no interior da matriz vegetal à uma pressão mais alta, resultando em uma solubilidade mais elevada do extrato e maiores taxas de transferência (HOLLENDER et al., 1997). A  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  foi observada uma redução no rendimento de extração após o aumento da pressão, embora essa variação não tenha sido significativa ( $p < 0,05$ ). Nesta temperatura, possivelmente, o rendimento de extração foi ligeiramente afetado pelas variações nas propriedades de transporte do  $\text{CO}_2$ , fazendo com que o aumento de pressão cause efeitos negativos sobre o processo de extração.

A extração usando propano comprimido como solvente e metanol como cossolvente (proporção de 2:1 entre metanol e raiz de bardana) apresentou uma alta performance em termos de rendimento ( $8,41 \pm 0,58 \%$ ). Este valor está próximo ao resultado obtido para a melhor condição usando  $\text{scCO}_2$  e metanol. Desta forma, o propano se mostra um solvente promissor para a obtenção de extratos de raiz de bardana e estudos adicionais devem ser realizados para otimizar o processo.

Com a finalidade de compreender mais claramente a influência da variação de proporção entre massa de metanol e massa de sólido sobre o desempenho das extrações, na Figura 5 estão representadas as curvas cinéticas para duas diferentes condições de pressão e temperatura. A 15 MPa e 60 °C (densidade do CO<sub>2</sub> de 604,09 kg.m<sup>-3</sup>), o aumento na quantidade de metanol em relação à de sólidos promoveu uma melhora no rendimento da extração. Geralmente, o desempenho da extração é mais afetado pelas propriedades do cossolvente do que por sua concentração (HOLLENDER et al., 1997). Para estas condições de pressão e temperatura foi observado que a quantidade de metanol é o principal fator afetando o processo de extração. As interações entre a matriz e os compostos e, ainda, as propriedades físico-químicas do cossolvente apresentaram um impacto profundo na eficiência da extração. Esse comportamento também foi discutido por Michielin et al. (2009) na extração de *Cordia verbenacea*. Para a pressão de 20 MPa e temperatura de 80 °C (densidade do CO<sub>2</sub> de 593,89 kg.m<sup>-3</sup>) foi observado um efeito oposto. Uma redução nos rendimentos de extração foi notada a medida que a concentração de metanol em relação à matéria-prima foi aumentada. Nestas condições, a alta quantidade do metanol no interior do extrator é muito superior à quantidade de amostra o que, possivelmente, tenha dificultado a ação do CO<sub>2</sub> como transportador, reduzindo a eficiência do processo. Assim, a extração realizada na pressão de 20 MPa, temperatura de 80 °C e proporção entre massa de metanol e massa de sólidos de 1:1 foi considerada a com melhores condições, pois, foi possível alcançar elevados rendimentos de extração com uma menor quantidade de metanol.

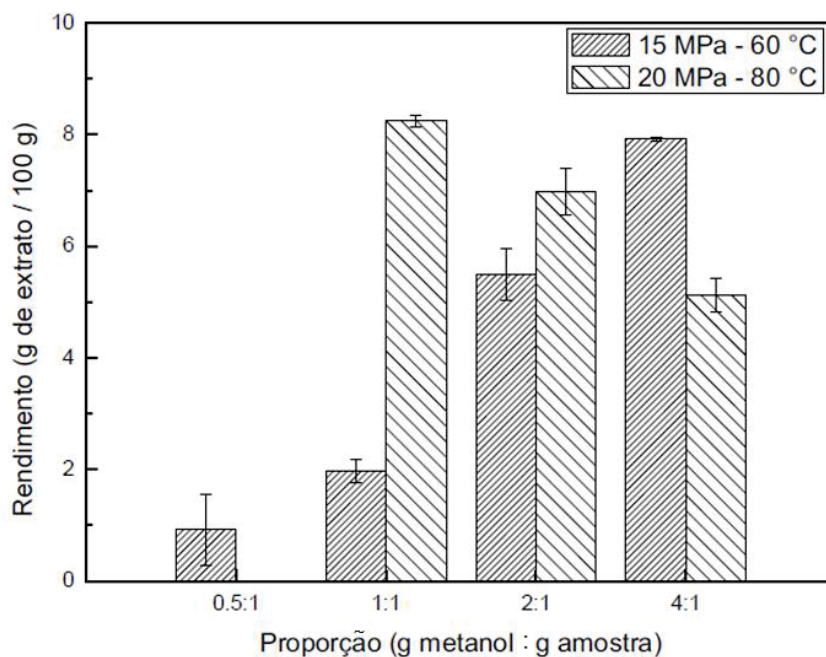


FIGURA 5 – EFEITOS DA PROPORÇÃO ENTRE MASSA DE METANOL E MASSA DE RAÍZ DE BARDANA SOBRE OS RENDIMENTOS DAS EXTRAÇÕES USANDO  $scCO_2$  COMO SOLVENTE COM 1 h DE EXTRAÇÃO ESTÁTICA.

As curvas cinéticas da extração de raiz de bardana para as condições descritas na Tabela 4 usando  $CO_2$  como solvente e metanol como cossolvente estão apresentadas de acordo com as diferentes pressões aplicadas. Na Figura 6, está apresentado o comportamento cinético das extrações a 10 MPa e temperaturas de 40 e 80 °C. A extração realizada à uma temperatura mais alta nesta pressão apresentou taxas de extração mais elevadas e um maior rendimento de extração. Além disso, a extração a 10 MPa e 80 °C alcançou o rendimento máximo em aproximadamente 6 min, gerando economia do ponto de vista energético.

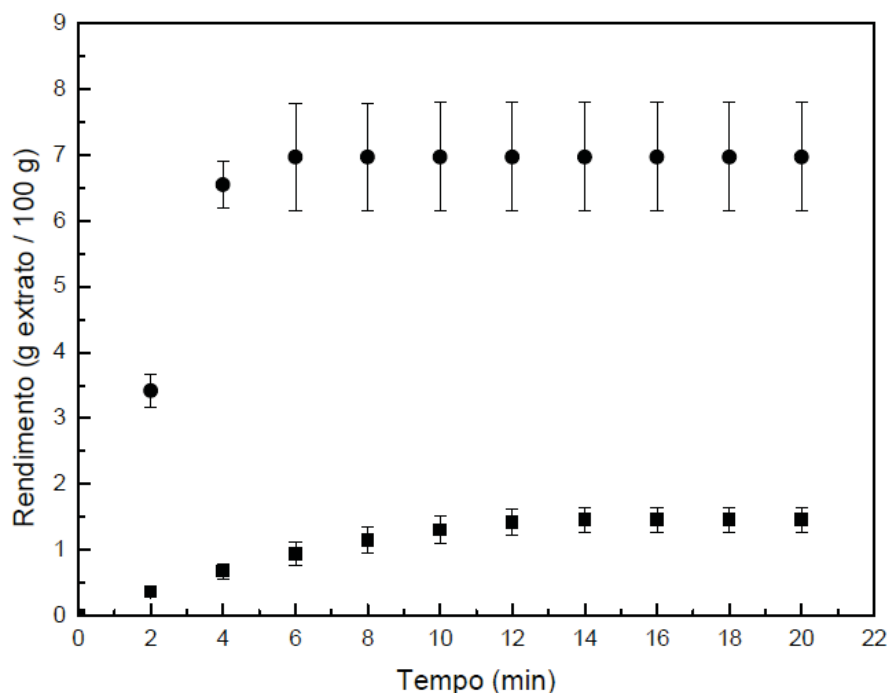


FIGURA 6 – CURVAS CINÉTICAS GLOBAIS DAS EXTRAÇÕES DE RAÍZ DE BARDANA USANDO  $\text{scCO}_2$  COMO SOLVENTE A (■) 10 MPa E 40 °C E (●) 10 MPa E 80 °C AMBOS COM PROPORÇÃO MÁSSICA DE 1:1 ENTRE METANOL E BARDANA.

As curvas cinéticas referentes as extrações realizadas em condições fixas de pressão e temperatura (15 MPa e 60 °C) variando a proporção entre massa de metanol e massa de sólidos estão apresentadas na Figura 7. Como mencionado anteriormente, nestas condições de pressão e temperatura, o aumento da quantidade de metanol em relação à massa de bardana promoveu rendimentos de extração mais elevados. As curvas globais de extração em proporções mais baixas (0,5:1 e 1:1) apresentaram uma taxa constante de extração (CER) até 10-14 min, onde a transferência convectiva de massa é a etapa limitante. Após este período, o processo alcançou o seu final, não havendo mais solutos recuperados pelo solvente. As extrações realizadas usando proporções mais elevadas entre massa de metanol e massa de bardana (2:1 e 4:1) apresentaram uma CER até 4-6 min de processo e então foi observada uma taxa decrescente de extração (FER) até o fim do processo (20 min neste estudo). Para ambas as condições (2:1 e 4:1), após a CER, um processo difusivo controlado ocorre sem alcançar o final da extração até o tempo final considerado como padrão neste estudo, indicando a possibilidade de alcançar um rendimento mais elevado aumentando o período de extração.

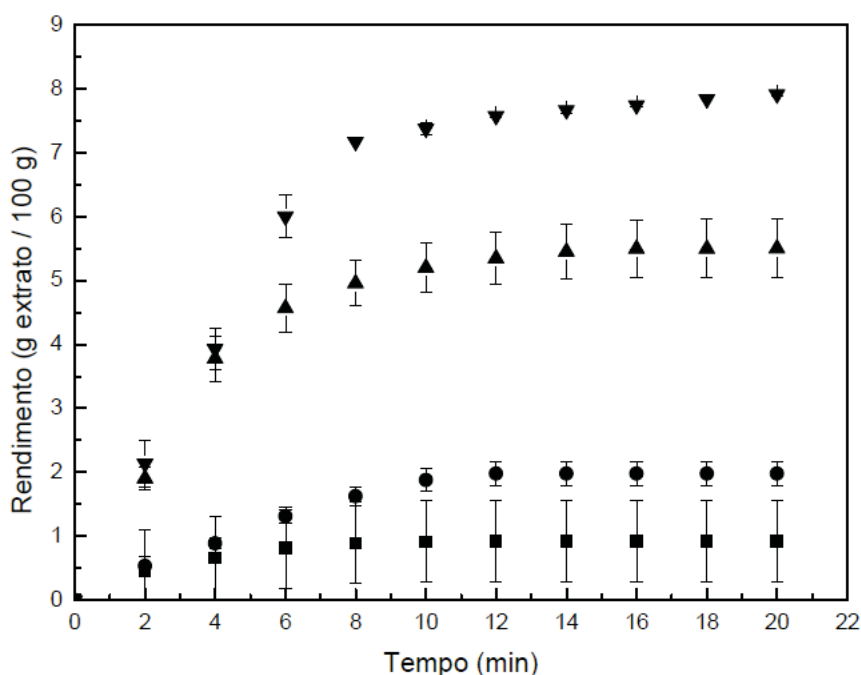


FIGURA 7 – CURVAS CINÉTICAS GLOBAIS DAS EXTRAÇÕES DE RAÍZ DE BARDANA COM  $\text{scCO}_2$  COMO SOLVENTE A 15 MPa E 60 °C COM PROPORÇÃO MÁSSICA ENTRE METANOL E BARDANA DE (■) 0,5:1, (●) 1:1, (▲) 2:1 E (▼) 4:1.

As curvas cinéticas para a pressão de 20 MPa estão apresentadas na Figura 8. Assim como o observado para as extrações realizadas a 10 e 15 MPa, a 20 MPa e proporção de massa 1:1 foi alcançado um menor rendimento na temperatura de 40 °C. As extrações realizadas a uma temperatura de 80 °C apresentaram diferentes curvas cinéticas de acordo com a proporção entre massa de metanol e massa de bardana utilizada. A 20 MPa e 80 °C, a maior taxa de extração com o maior rendimento foram obtidos na proporção mássica de 1:1 entre metanol e sólidos. O aumento da concentração de metanol para 2:1 e 4:1 ocasionou uma redução nas taxas de extração. A 20 MPa, 80 °C e proporção de 1:1, a CER ocorreu até os 6 min de extração, seguido pela FER até os 20 min de processo, alcançando o máximo de recuperação de soluto para esse processo. As extrações realizadas a 20 MPa e sob outras condições de temperatura e proporção de massa apresentaram uma CER até 10 min de processo, seguido da FER até o final da extração (20 min).



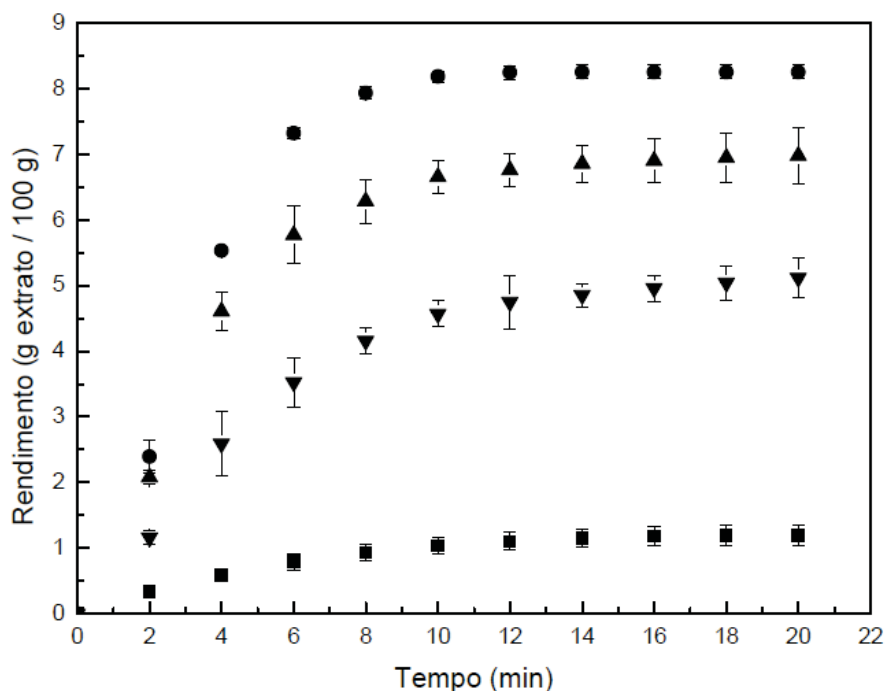


FIGURA 8 - CURVAS CINÉTICAS GLOBAIS DAS EXTRAÇÕES DE RAÍZ DE BARDANA USANDO  $\text{scCO}_2$  COMO SOLVENTE A (■) 20 MPa, 40 °C E PROPORÇÃO MÁSSICA DE 1:1 ENTRE METANOL E BARDANA; (●) 20 MPa, 80 °C E 1:1; (▲) 20 MPa, 80 °C E 2:1 E (▼) 20 MPa, 80 °C E 4:1.

A Figura 9 representa as curvas globais de extração comparando os resultados obtidos com a aplicação de dois diferentes tempos de confinamento (período estático de extração) nas condições de 15 MPa, 60 °C e proporção mássica de 1:1 (Extrações 5 e 6, Tabela 4). Para fins de comparação, estas duas curvas estão representadas na mesma figura que a curva obtida na extração usando propano como solvente. O desempenho da extração usando  $\text{scCO}_2$  e proporção mássica de 1:1 com extração estática de 120 min apresentou um rendimento final de extração de  $6,51 \pm 0,75$  %, resultado maior do que as extrações considerando 60 min de tempo de confinamento ( $1,97 \pm 0,21$  %). Embora esse resultado tenha demonstrado a forte influência do período de confinamento sobre a performance do processo de extração, o aumento do tempo total do processo pode aumentar consideravelmente os custos de operação. Portanto, uma avaliação adicional da viabilidade econômica deve ser considerada para novos estudos e otimização do processo. Neste trabalho, buscando reduzir custos em escala laboratorial, foi considerado um período de confinamento de 60 min como parâmetro padrão de processo.

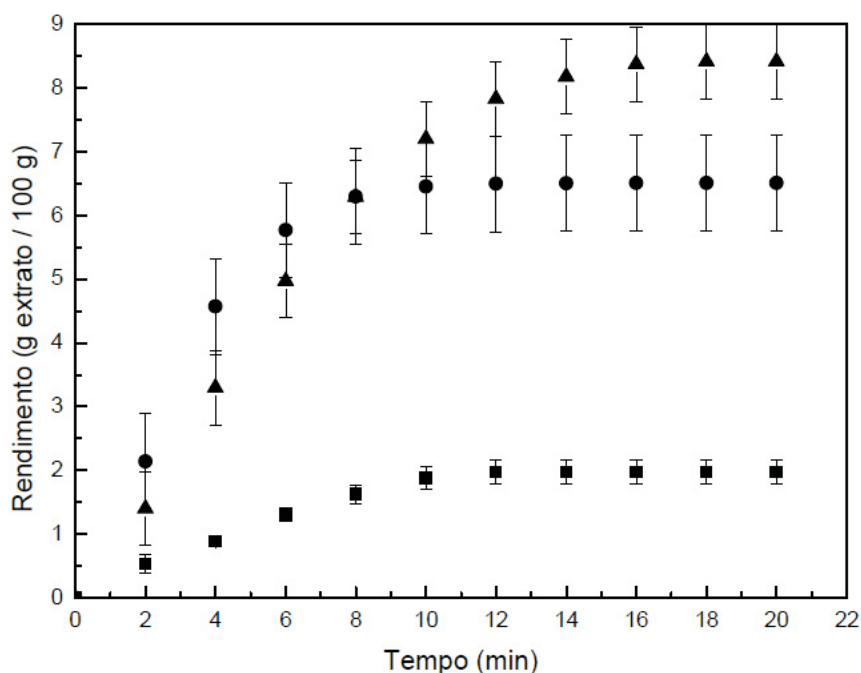


FIGURA 9 - CURVAS CINÉTICAS GLOBAIS DAS EXTRAÇÕES DE RAÍZ DE BARDANA USANDO scCO<sub>2</sub> COMO SOLVENTE A 15 MPa, 60 °C, PROPORÇÃO MÁSSICA DE 1:1 ENTRE METANOL E BARDANA E (■) 60 min E (●) 120 min DE TEMPO ESTATICO DE EXTRAÇÃO; E (▲) PROPANO COMPRIMIDO A 5 MPa, 60 °C E PROPORÇÃO MÁSSICA DE 2:1 (TEMPO ESTATICO DE EXTRAÇÃO DE 60 min).

A extração com propano como solvente e metanol como cossolvente a 5 MPa, 60 °C e proporção entre a massa de metanol e massa de sólidos de 2:1 (Figura 9) alcançou um rendimento de  $8,41 \pm 0,58$  %, ligeiramente superior ao rendimento obtido no melhor desempenho de extração com scCO<sub>2</sub> ( $8,25 \pm 0,10$  %). Pode ser observado na Figura 9 que a taxa inicial de extração usando propano é menor quando comparada à utilizando scCO<sub>2</sub>, no entanto, o rendimento final é mais elevado. Desta forma, há um indicativo de que a etapa convectiva é mais lenta usando propano e, possivelmente, os extratos de bardana são mais solúveis na mistura propano-metanol do que CO<sub>2</sub>-metanol. Além disso, o processo de extração usando propano exige um menor consumo de energia, já que pressões e temperaturas mais baixas possibilitam alcançar altos rendimentos de extração no mesmo período de tempo aplicado às extrações com scCO<sub>2</sub>. Entretanto, o propano é considerado melhor solvente para extrair compostos apolares do que o CO<sub>2</sub> (MESOMO et al., 2012; HAMDAN et al., 2008; FREITAS et al., 2008; LANZA et al., 2005; NDIAYE et al., 2006a;

NDIAYE et al., 2006b), limitando sua aplicação e fornecendo extratos com diferentes composições e atividades. Apesar do seu alto custo, o propano apresentou resultados promissores em termos de rendimento de extração para as raízes de bardana, tornando necessários estudos e análises mais profundas sobre a viabilidade do processo.

## 5.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS DE *Arctium lappa*

Com objetivo de avaliar os efeitos das variáveis de processo (pressão, temperatura e proporção entre massa de metanol e massa de material) sobre a composição dos extratos de bardana, foram realizadas análises de GC-MS para todos os extratos obtidos após o tempo fixo de extração de 20 min. A quantificação dos principais compostos encontrados nesses extratos estão apresentados na Tabela 5. Alguns dos cromatogramas gerados durante as análises são apresentados no Apêndice A.

Para a maior parte das condições de extração usando scCO<sub>2</sub> como solvente, o principal composto foi o ftalato de disooctilo (DIOP), seguido da 2,3-di-hidro-3,5-di-hidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona (DDMP). Em alguns casos específicos, um perfil ligeiramente diferente foi observado. Nas condições de 20 MPa e 80 °C com proporção mássica de 1:1, o principal composto encontrado foi o DIOP, com metil oleato como segundo composto em maior quantidade. A extração realizada nas mesmas condições de pressão e temperatura considerando uma proporção mássica de 4:1 entre metanol e bardana apresentou um comportamento inverso se comparado com a maior parte das extrações com scCO<sub>2</sub>, apresentando a DDMP como o principal composto, seguido do DIOP. A extração com propano comprimido também apresentou diferentes quantidades de compostos químicos. O principal composto no extrato obtido com propano foi a DDMP, seguida do butileno glicol.

TABELA 5 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS DE RAÍZ DE BARDANA USANDO scCO<sub>2</sub> E PROPANO COMO SOLVENTES

Compostos	t <sup>b</sup> (min)	RI <sup>c</sup>	Extrações com CO <sub>2</sub>												Extrações com propano
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
			Quantidade <sup>a</sup>												
2,3-Epoxyhexanol	3,19	-	3,34	2,23	3,17	3,31	3,59	3,40	2,31	2,91	1,81	3,14	11,67	1,13	
Glicerol	3,29	-	0,94	4,96	4,17	-	-	5,96	-	5,05	-	-	2,37	4,97	
Dimetiletileno glicol	3,33	-	8,76	1,37	0,79	9,34	7,69	2,89	3,51	8,48	1,23	4,54	11,50	4,81	
Butileno glicol	3,54	-	-	-	-	12,41	-	-	4,74	-	-	-	-	10,77	
Dimetilfumarato	8,77	-	1,57	1,33	-	-	-	0,355	-	-	-	-	0,20	1,22	
Ácido butanoico	10,11	-	2,87	-	2,6	-	1,95	-	-	-	1,03	-	-	-	
DDMP <sup>d</sup>	10,36	-	17,53	9,81	17,15	15,45	13,44	11,84	11,29	13,07	7,05	13,48	18,54	16,90	
Etil fenilacetato	12,65	1243	2,87	1,95	2,39	-	2,24	2,41	2,55	1,67	1,35	1,95	0,54	0,83	
Etil dodecanoato	18,61	1582	1,54	3,38	2,05	1,89	0,97	1,05	2,11	1,63	3,24	1,19	-	1,49	
Pentadecanal	22,92	1724	1,34	0,73	1,54	0,94	2,13	2,21	1,95	1,26	0,57	1,66	2,64	4,34	
Etil palmitato	25,82	2008	0,95	6,40	2,94	0,94	2,33	1,21	1,53	1,18	6,08	1,23	-	0,93	
Metil oleato	28,08	2067	1,63	9,79	4,24	2,46	3,54	-	3,67	1,94	9,59	2,39	1,39	1,58	
Metil estearato	28,15	2069	0,74	3,77	2,39	1,00	1,54	1,13	1,50	0,85	4,14	1,06	0,46	0,66	
Ácido linoleico	28,61	2081	-	-	-	1,79	-	-	1,55	-	0,97	-	-	1,79	
Ftalato de diisocitilo	32,47	2452	30,50	41,40	28,93	26,23	43,47	31,21	48,94	48,74	46,02	48,39	15,50	5,91	

<sup>a</sup>Resultados em g/100 g de extrato.<sup>b</sup>Tempo de retenção.<sup>c</sup>Índice de retenção.<sup>d</sup>2,3-di-hidro-3,5-di-hidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona

Condições das extrações: 1 (10 MPa, 40 °C, 1:1), 2 (10 MPa, 80 °C, 1:1), 3 (15 MPa, 60 °C, 1:1), 4 (15 MPa, 60 °C, 0,5:1), 5 (15 MPa, 60 °C, 2:1), 6 (15 MPa, 60 °C, 4:1), 7 (15 MPa, 60 °C, 1:1, 2 h de tempo de confinamento), 8 (20 MPa, 40 °C, 1:1), 9 (20 MPa, 80 °C, 1:1), 10 (20 MPa, 80 °C, 2:1), 11 (20 MPa, 80 °C, 4:1) e 12 (5 MPa, 60 °C, 1:1).

A composição do extrato pode ser influenciada pelas condições de extração, tais como pressão e temperatura, e pela técnica de extração utilizada. Portanto, é possível obter extrato com diferentes características de acordo com o método aplicado. Alguns autores relataram a presença de diferentes compostos em seus extratos de bardana. Os principais compostos encontrados nesses estudos têm características de ácidos hidroxicinâmicos, como os ácidos cafeico e cafeoilquínico obtidos através de outros métodos de extração, tais como extração com mistura água-metanol assistida por ultrassom e com clorofórmio à temperatura ambiente (LIN; HARNLY, 2008; JAISWAL; KUHNERT, 2011; DA SILVA et al., 2013). Esses compostos são largamente encontrados em várias plantas e têm variadas atividades biológicas (KURATA et al., 2007; TAMURA et al., 2006).

Extensivamente estudado na literatura, o ftalato de disooctilo (DIOP) é um importante componente dos extratos de raiz de bardana. O DIOP é um diéster de ácido ftálico largamente aplicado como plastificante em borrachas sintéticas e em resinas celulósicas e vinílicas. De acordo com a Federal Hazardous Substances Act (FHSA), o DIOP pode ser considerado como um irritante primário da pele, testado em animais com doses de 3.160 mg/kg de DIOP (CARLSON; PATTON, 2011). Em 2013, um estudo apontou que o DIOP é capaz de interromper o desenvolvimento reprodutivo androgênico dependente quando aplicado à ratos durante o estágio pré-natal de diferenciação sexual e causar sérias e permanentes más formações do sistema reprodutivo masculino (SAILLENFAIT et al., 2013).

Também encontrado em grande quantidade nos extratos, a 2,3-di-hidro-3,5-di-hidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona (DDMP) tem características técnicas significantes. A DDMP apresenta alta capacidade de agir como antioxidante em substâncias voláteis e tem gerado muita discussão nos últimos anos. A DDMP foi identificada como um forte antioxidante em produtos da reação de *Maillard* de glicose-histidina dentre todas as frações obtidas da separação da glicose-histidina (YU et al., 2013a). Outra pesquisa observou resultados similares, provando a contribuição do DDMP para a atividade antioxidante de produtos voláteis da reação de *Maillard* (YU et al., 2013b).

Outras substâncias importantes foram detectadas nos extratos de raiz de bardana, tais como glicerol, metil oleato, ácido butanoico e pentadecanal. Os processos metabólicos de muitos organismos convertem glicerol em metabólitos intermediários que são usados para a biossíntese de componentes celulares essenciais, como lipídios (XUE; CHEN; JIANG, 2017). O metil oleato pode ser utilizado como precursor na síntese de diversos óleos lubrificantes biológicos com boas características (CUI; YUN; GUI, 2016). Ácidos carboxílicos, como o ácido butanoico, podem ser aplicados na síntese de ésteres e como catalisadores na síntese de biodiesel e polímeros biodegradáveis (BAHDUR et al., 2014). O pentadecanal é capaz de inibir a oviposição e pode prejudicar o desenvolvimento de insetos, além de afetar negativamente ovos e larvas (SAMADI et al., 2017).

### 5.3 CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os resultados referentes ao conteúdo fenólico total, expresso em mg de ácido gálico.g de extrato<sup>-1</sup>, e a atividade antioxidante em termos de concentração eficiente (EC<sub>50</sub>), expressa em mg de extrato.mL<sup>-1</sup>, obtidos sob as diferentes condições de pressão, temperatura e proporção mássica usando scCO<sub>2</sub> e propano comprimido podem ser observados na Tabela 6. Os resultados (média ± desvio padrão) foram analisados estatisticamente e tratados independentemente. O teste de Tukey foi aplicado para avaliar as diferenças entre as médias considerando  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo.

TABELA 6 - CONTEÚDO DE FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE RAÍZ DE BARDANA OBTIDOS COM scCO<sub>2</sub> E PROPANO COMPRIMIDO COMO SOLVENTES

Amostra	Condições de extração	Conteúdo de fenólicos totais (mg <sub>GAE</sub> .g de extrato <sup>-1</sup> )**	EC <sub>50</sub> (mg de extrato.mL <sup>-1</sup> )**
1	CO <sub>2</sub> /10 MPa/40 °C/1:1	68,21 <sup>cd</sup> (±2,94)	0,22 <sup>b</sup> (±0,00)
2	CO <sub>2</sub> /10 MPa/80 °C/1:1	56,66 <sup>de</sup> (±4,44)	0,19 <sup>cde</sup> (±0,00)
3	CO <sub>2</sub> /15 MPa/60 °C/1:1	91,45 <sup>a</sup> (±7,39)	0,18 <sup>def</sup> (±0,02)
4	CO <sub>2</sub> /15 MPa/60 °C/0.5:1	91,21 <sup>a</sup> (±2,48)	0,20 <sup>cd</sup> (±0,01)
5	CO <sub>2</sub> /15 MPa/60 °C/2:1	75,03 <sup>bc</sup> (±6,52)	0,17 <sup>ef</sup> (±0,00)
6	CO <sub>2</sub> /15 MPa/60 °C/4:1	61,76 <sup>cde</sup> (±9,06)	0,13 <sup>g</sup> (±0,00)
7	CO <sub>2</sub> /15 MPa/60 °C/1:1*	49,31 <sup>e</sup> (±1,57)	0,29 <sup>a</sup> (±0,01)
8	CO <sub>2</sub> /20 MPa/40 °C/1:1	56,31 <sup>de</sup> (±5,50)	0,18 <sup>def</sup> (±0,00)
9	CO <sub>2</sub> /20 MPa/80 °C/1:1	60,35 <sup>cde</sup> (±5,67)	0,16 <sup>f</sup> (±0,00)
10	CO <sub>2</sub> /20 MPa/80 °C/2:1	58,79 <sup>cde</sup> (±6,71)	0,21 <sup>bc</sup> (±0,01)
11	CO <sub>2</sub> /20 MPa/80 °C/4:1	94,52 <sup>a</sup> (±4,14)	0,17 <sup>f</sup> (±0,00)
12	Propano/5 MPa/60 °C/2:1	85,88 <sup>ab</sup> (±7,98)	0,22 <sup>b</sup> (±0,00)

\*Extrações realizadas considerando 2 h de tempo de confinamento.

\*\*Valores com a mesma letra ao longo da mesma coluna não são diferentes significativamente (p<0.05) pelo teste de Tukey.

A maior quantidade de compostos fenólicos foi obtida na extração realizada nas condições de pressão e temperatura mais elevadas (20 MPa e 80 °C) usando uma proporção entre massa de metanol e massa de sólidos de 4:1 e scCO<sub>2</sub> como co-solvente. Esse resultado foi seguido pelas extrações com scCO<sub>2</sub> executadas a 15 MPa e 60 °C com proporção de 1:1 e 0,5:1, respectivamente, não apresentando diferenças estatísticas significativas (p<0,05). Em geral, o aumento da proporção mássica entre metanol e raiz de bardana na pressão de 15 MPa promoveu efeitos negativos sobre o conteúdo de compostos fenólicos totais nos extratos obtidos com scCO<sub>2</sub>. A 20 MPa, foi observado um efeito positivo sobre o conteúdo fenólico a medida que a proporção mássica foi aumentada. A menor quantidade de compostos fenólicos foi observada na extração à pressão de 15 MPa e 60 °C (proporção de 1:1), considerando um tempo de confinamento de 120 min. Embora o aumento do tempo de confinamento tenha afetado positivamente o rendimento do processo de extração, essa abordagem se mostrou desvantajosa na obtenção de compostos fenólicos.

Uma alta atividade antioxidante é indicada por um baixo  $EC_{50}$ , portanto, quanto menor é o  $EC_{50}$ , maior é a atividade antioxidante da substância. O extrato com a mais alta atividade antioxidante ( $EC_{50} = 0,13$  mg de extrato.mL<sup>-1</sup>) foi obtido quando a extração foi realizada a 15 MPa e 60 °C com uma proporção mássica entre metanol e material de 4:1, usando o scCO<sub>2</sub> como solvente. Esse valor foi significativamente ( $p < 0,05$ ) maior que os resultados obtidos por outras condições de extração. Foi observada uma tendência suave de aumento de potencial antioxidante a medida que a proporção mássica para os extratos obtidos em condições intermediárias de extração (15 MPa e 60 °C), sendo o extrato obtido usando uma proporção mássica de 4:1 o que apresentou a melhor atividade antioxidante. Um comportamento diferente foi observado com a variação da proporção entre massa de metanol e massa de raiz de bardana na pressão de 20 MPa.

A variação de temperatura considerando uma pressão fixa de 10 MPa afetou significativamente ( $p < 0,05$ ) a atividade antioxidante, promovendo a obtenção de um extrato com uma maior atividade antioxidante na temperatura mais elevada (80 °C). A 20 MPa, a influência da temperatura sobre a atividade antioxidante não foi significativa. Por outro lado, a variação de pressão apresentou uma influência significativa sobre o processo de extração nas duas temperaturas extremas consideradas, aumentando a atividade antioxidante a medida houve o aumento de pressão. O resultado mais baixo de atividade antioxidante em termos de  $EC_{50}$  foi observado na extração realizada em condições intermediárias de processo com scCO<sub>2</sub> considerando uma proporção mássica de 1:1 e 2 h de confinamento ( $EC_{50} = 0,29$  mg de extrato.mL<sup>-1</sup>), confirmando a observação feita anteriormente para os compostos fenólicos nessas condições.

Não houve correspondência entre o extrato com o mais alto conteúdo fenólico encontrado (amostra 11, Tabela 6) e o extrato com a maior atividade antioxidante (amostra 6, Tabela 6), mesmo considerando que as medidas foram realizadas usando diferentes métodos. Esta inconsistência pode ter ocorrido pela utilização do reagente de *Folin-Denis* para medir a quantidade de compostos fenólicos presentes no extrato. Esse reagente é composto pelos ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico que podem reagir com outros compostos além



dos fenóis dentro de uma reação redox complexa, como substâncias suscetíveis à oxidação, criando uma possível fonte de erro na estimativa de compostos fenólicos (MESOMO et al., 2012). Além disso, os compostos fenólicos podem reagir de diferentes maneiras com o reagente de *Folin-Denis*, dependendo do número de grupos fenólicos que eles possuem (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTOS, 1999; OUCHIKH et al., 2011).

Horng et al. (2013) estudaram o conteúdo de compostos fenólicos totais em extratos de raízes de bardana obtidos pela extração com refluxo de água destilada por 3 h e alcançaram um valor de  $48,8 \pm 5,6 \text{ mg}_{\text{GAE}}.\text{g}$  de extrato<sup>-1</sup>. Esse resultado é inferior ao conteúdo fenólico encontrado para todas as condições de extração utilizadas neste trabalho. Em um estudo recente, Fan et al. (2015) investigaram, entre outras coisas, a concentração eficiente (EC<sub>50</sub>) de extratos de bardana obtidos por um processo de extração com aplicação de altas pressões e o resultado foi  $0,309 \pm 0,007 \text{ mg}$  de extrato.mL<sup>-1</sup>. Em comparação com o presente estudo, os resultados obtidos por Fan et al. apresentaram um EC<sub>50</sub> inferior, indicando que a extração supercrítica é uma melhor opção para a obtenção de extratos de raiz de bardana com alto potencial antioxidante.

Kenny et al (2014) avaliaram o conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante para extratos aquosos e etanólicos de espécies da família *Asteraceae*, mesma família da *Arctium lappa*. O conteúdo fenólico total para os extratos aquosos variaram entre 12,08 e 86,72 mg<sub>GAE</sub>.g<sup>-1</sup> de extrato, enquanto, para os extratos etanólicos, houve um intervalo maior, com variações de 19,04 a 227,94 mg<sub>GAE</sub>.g de extrato<sup>-1</sup>. A atividade antioxidante para os extratos aquosos apresentou a EC<sub>50</sub> variando no intervalo de 0,483 a 2,458 mg de extrato.mL<sup>-1</sup>. Os extratos etanólicos demonstraram um potencial antioxidante mais elevado em comparação com os extratos aquosos, com a EC<sub>50</sub> variando de 0,029 a 0,845 mg de extrato.mL<sup>-1</sup>.

É importante mencionar que a atividade antioxidante de uma substância é fortemente influenciada pelo método aplicado em sua determinação, de acordo com alguns estudos. Portanto, existe uma dificuldade considerável na comparação dos resultados com os relatados na literatura (EL-GHORAB; MANSOUR; EL-MASSRY, 2004; RUBERTO; BARATTA, 2000; DORMAN et al., 2000; LEE; SHIBAMOTO, 2002; LEE; SHIBAMOTO, 2001).

Em geral, os extratos obtidos da raiz de bardana apresentaram uma quantidade considerável de compostos bioativos. Portanto, o potencial como agente antioxidante natural dos extratos obtidos com CO<sub>2</sub> supercrítico pode ser aplicado nas indústrias farmacêutica e alimentícia.

## 6 CONCLUSÕES

Neste trabalho, o CO<sub>2</sub> supercrítico (scCO<sub>2</sub>) e o propano comprimido foram usados como solventes para obter extratos de raízes de bardana usando metanol como cossolvente. Os rendimentos mais altos de extratos de bardana foram 8,25 e 8,41 g de extrato.100 g<sup>-1</sup> de raíz de bardana usando scCO<sub>2</sub> a 20 MPa e 80 °C e propano comprimido a 5 MPa e 60 °C, respectivamente. O aumento da pressão considerando uma temperatura fixa de 40 °C apresentou efeitos negativos sobre o rendimento da extração, enquanto a 80 °C uma melhora no desempenho da extração foi observada. O aumento da proporção entre massa de metanol e massa de raíz de bardana a 15 MPa e 60 °C promoveu um aumento no rendimento da extração. Em contrapartida, a 20 MPa e 80 °C, este aumento causou o efeito oposto, sendo o melhor rendimento global o obtido a 20 MPa, 80 °C e proporção mássica de 1:1.

Os compostos encontrados em maior quantidade nos extratos de raíz de bardana foram o ftalato de dioctilo (DIOP) e 2,3-di-hidro-3,5-di-hidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona (DDMP), com pequenas variações de quantidade entre as condições de extração aplicadas a extração usando scCO<sub>2</sub> como solvente. Outros compostos importantes foram encontrados, tais como glicerol, metil oleato, ácido butanoico e pentadecanal. O extrato obtido com propano comprimido como solvente apresentou o DDMP como principal composto em quantidade em sua composição, seguido por butileno glicol.

A atividade antioxidante mais elevada foi observada no extrato obtido a 15 MPa e 60 °C considerando uma proporção mássica de 4:1, usando scCO<sub>2</sub> como solvente. O extrato com maior quantidade de compostos fenólicos totais foi alcançado nas condições de 20 MPa, 80 °C e proporção mássica de 4:1, com scCO<sub>2</sub> como solvente. O aumento da proporção entre massa de metanol e massa de bardana apresentou efeitos positivos sobre conteúdo fenólico a 20 MPa e sobre a atividade antioxidante a 15 MPa. A 15 MPa, a variação da proporção mássica causou uma redução no conteúdo de fenólicos totais. O mesmo comportamento foi observado para a atividade antioxidante a 20 MPa.

O processo de extração usando scCO<sub>2</sub> com metanol como cossolvente demonstrou ser uma abordagem promissora para a obtenção de extratos de raízes de bardana com alta atividade biológica.

## REFERÊNCIAS

- ABOUTABLA, E. A.; EL-TANTAWY, M. E.; SHAMS, M. M. **Chemical composition and antimicrobial activity of volatile constituents from the roots, leaves, and seeds of *Arctium lappa* L. (Asteraceae) grown in Egypt.** Egyptian Pharmaceutical Journal, v. 12, p. 173–176, 2013.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. **Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos.** Revista Química Nova, v. 33 (10), p. 2202- 2210, 2010.
- ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P. D.; PATSALIDES, E.; McDONALD, S.; ROBARDS, K. **Methods for testing antioxidant activity.** Analyst, 127, 183–198, 2002.
- AOAC. Official Methods of Analysis. **Association of Official Analytical Chemists International**, Arlington, 1999.
- AOCS. American Oil Chemists Society. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society.** AOCS Press Champaign, v. 1, ed. 6, 1994.
- BAHADUR, I.; NAIDOO, P.; SINGH, S.; RAMJUGERNATH, D.; DEENADAYALU, N. **Effect of temperature on density, sound velocity, refractive index and their derived properties for the binary systems (heptanoic acid + propanoic or butanoic acids).** J. Chem. Thermodynamics, v. 78, p. 7–15, 2014.
- BALACHANDRAN, S.; KENTISH, S. E.; MAWSON, R. **The effect of both preparation method and season on the supercritical extraction of ginger.** Separation and Purification Technology, v. 48 (2), p. 94–105, 2006.
- BARBOSA-FILHO, J. M.; MARTINS, V. K. M.; RABELO, L. A.; MOURA, M. D.; SILVA, M. S.; CUNHA, E. V. L.; SOUZA, M. F. V.; ALMEIDA, R.N.; MEDEIROS, I.A. **Natural products inhibitors of the angiotensin converting enzyme (ACE). A review between 1980- 2000.** Rev Bras Farmacogn 16: 421-446, 2006.
- BASER, K.H.C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils: science, technology and applications**, 2010. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/61792728/Handbook-of-Essential-Oils-Science-Technology-and-Applications>>. Acesso em: 27 de janeiro de 2017.
- BRANDÃO, M. G.; L. ZANETTIA, N. N. S.; OLIVEIRA, P.; GRAELC, C. F. F.; SANTOS, A. C. P.; MONTE-MÓRE, R. L. M. **Brazilian medicinal plants described by 19th century European naturalists and in the Official Pharmacopoeia.** Journal of Ethnopharmacology, v. 120, p. 141-148, 2008.

BRASIL. Decreto no. 50.040, de 24 de janeiro de 1961. Normas Técnicas Especiais Reguladoras do emprego de aditivos químicos a alimentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 1961.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada RDC n° 104, de 26 de abril de 1999. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1999.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada RDC n° 222, de 28 de dezembro de 2006 – Anexo I. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 2006.

BRUM, L.F.W. **Obtenção e avaliação de extratos de folhas de eucalipto (*Eucalyptus dives*) como potenciais antioxidantes em alimentos**. 135 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de pósgraduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

BRUNNER, G. **Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes**. 1 ed. Darmstadt, Alemanha: Steinkopff, 387p, 1994.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 21–33, 2005.

BURLANDO, B; VEROTTA, L.; CORNARA, L.; BOTTINI-MASSA, E. **Herbal Principles in Cosmetics**. United States of America: Taylor e Francis Group, 2010.

CAMPOMANES, A.M.F. **Recuperação de compostos bioativos via extração supercrítica convencional dos resíduos de uva provenientes do processamento do pisco**. 224 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.

CARERI, M.; FURLATTINI, L.; MANGIA, A.; MUSCI, M.; ANKLAM, E.; TREOBALD, A.; VON HOLST, C. **Supercritical fluid extraction for liquid chromatographic determination of carotenoids in *Spirulina Pacifica* algae: a chemometric approach**. *Journal of Chromatography A*, v. 12, p. 61–71, 2001.

CARLOTTO, J.; DA SILVA, L. M.; DARTORA, N.; FERREIRA, D. M.; DE A. SABRY, D.; FILHO, A. P. S.; WERNER, M. F. DE P.; SASSAKI, G. L.; GORIN, P. A. J.; IACOMINI, M.; CIPRIANI, T. R.; DE SOUZA, L. M. **Identification of a dicaffeoylquinic acid isomer from *Arctium lappa* with a potent anti-ulcer activity**. *Talanta*, v. 135, p. 50–57, 2015.

CARLSON, K. R.; PATTON, L. E. **Toxity review of Diisooctyl phthalate (DIOP)**. U. S. Consumer Product Safety Comission, Versar Inc., 2011.

CARVALHO JUNIOR, R. N. DE. **Obtenção de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) por extração supercrítica: determinação do**

**rendimento global, de parâmetros cinéticos e de equilíbrio e outras variáveis do processo.** 151 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

CASTRO, M. D. L. DE; PRIEGO-CAPOTE, F. **Soxhlet extraction: Past and present panacea.** Journal of Chromatography A, v.1217, p. 2383–2389, 2010.

CHAN, E. W. C.; LIM, Y. Y.; OMAR, M. **Antioxidant, antibacterial activity of leaves of Etlingera species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia.** Food Chemistry, v. 104, p. 1586–1593, 2007.

CHAN, Y. S.; CHENG, L. N.; WU, E. C.; KWAN, Y. W.; LEE, S. M. Y.; LEUNG, G. P. H.; YU, P. H. F.; CHAN, S. W. **A review of the pharmacological effects of Arctium lappa(burdock).** Inflammopharmacology, v.19, p. 245-254, 2011.

CHEMSPIDER. **Search and share chemistry**, 2017. Disponível em: <http://www.chemspider.com/>. Acesso em 18 de julho de 2017.

CHIANG, L.C.; CHIANG, W.; CHANG, M.Y.; NG, L.T.; LIN, C.C. **Antiviral activity of Plantago major extracts and related compounds in vitro.** Antiviral Res., v. 55, n.1, p. 53-62, 2002.

CHO, M. K.; PARK, J. W.; JANG, Y. P.; KIM, Y. C.; KIM, S. G. **Potent inhibition of lipopolysaccharide-inducible nitric oxide synthase expression by dibenzylbutyrolactone lignans through inhibition of I-kappaBalpha phosphorylation and of p65 nuclear translocation in macrophages.** International Immunopharmacology, v. 2, p. 105–116, 2002.

CHO, M.K.; JANG, Y. P.; KIM, S. G. **Arctigenin, a phenylpropanoid dibenzylbutyrolactone lignan, inhibits MAP kinases and AP-1 activation via potent MKK inhibition: the role in TNF inhibition.** International Immunopharmacology, v.4, p.1419-29, 2004.

COELHO, R. A. **Obtenção de óleo de sementes de quiuí (*Actinidia deliciosa*) utilizando extração com solvente pressurizado e extração assistida com ultrassom.** 75 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

CORREA, A. D.; BATISTA, R. S.; QUINTAS, L. E. **Plantas medicinais: do cultivo à terapêutica.** 2 ed. Rio de Janeiro: Vozes, p. 246, 1999.

CORTESI, A.; KIKIC, I.; ALESSI, P.; TURTOI, G.; GARNIER, S. **Effect of chemical structure on the solubility of antioxidants in supercritical carbon dioxide: experimental data and correlation.** Journal of Supercritical Fluids, v. 14, n. 2, p. 139-144, 1999.

CUI, S.; YUN, Z.; GUI, X. **Modification of methyl oleate for silicon-based biological lubricating base oil**. Chinese Journal of Chemical Engineering, v. 25, p. 130-136, 2016.

CUNHA, A.P.; SILVA, A.P.; ROQUE, O.R. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia**. 1 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003.

DA SILVA, L. M. **Atividade gastroprotetora e efeito sobre a função motora gástrica de ratas das folhas de *Arctium lappa* L. (bardana): um estudo sob condições normais e aumentadas de glicemia**. 158 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Departamento de Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

DA SILVA, L. M.; ALLEMAND, A.; MENDES, D. A. G. B.; DOS SANTOS, A. C.; ANDRÉ, E.; DE SOUZA, L. M.; CIPRIANI, T. R.; DARTORA, N.; MARQUES, M. C. A.; BAGGIO, C. H.; WERNER, M. F. **Ethanollic extract of roots from *Arctium lappa* L. accelerates the healing of acetic acid-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the antioxidant system**. Food and Chemical Toxicology, v. 51, p. 179–187, 2013.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DÍAZ-REINOSO, B.; MOURE, A.; DOMINGUÉZ, H.; PARAJO, J. C. **Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction and purification of Compounds with Antioxidant Activity**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 54, p. 2441-2469, 2006.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. **Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils**. Journal of Applied Microbiology, v. 88, p. 308-16. 2000.

DORMAN, H. J. D.; FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; DEANS, S. G. **In vitro evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components**. Flavour and Fragrance Journal, v. 15, p. 12–16, 2000.

DORMAN, H. J. D.; KOSAR, M.; KAHLOS, K.; HOLM, Y.; HILTUNEN, R. **Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species: Hybrids, Varieties and Cultivars**. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Washington, v. 51, n. 16. p. 4563-4589, 2003.

EL-GHORAB, A. H.; MANSOUR, A. F.; EL-MASSRY, K. F. **Effect of extraction methods on the chemical composition and antioxidant activity of Egyptian marjoram (*Majorana hortensis* Moench)**. Flavour Fragrance Journal, v. 19, p. 54–61, 2004.

FAN, J.; CAI, X.; FENG, X.; HOU, Y.; FAN, L. **Optimization of process for ultra-high pressure-assisted synchronous extraction of polyphenols and flavones from burdock roots and their antioxidant activity**. Food Safety Key



Laboratory of Liaoning Province, Food Science Research Institute, v. 36, p. 69-75, 2015.

FERRACANE, R.; GRAZIANI, G.; GALLO, M.; FOGLIANO, V.; RITIENI, A. **Metabolic profile of the bioactive compounds of burdock (*Arctium lappa*) seeds, roots and leaves** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 51, p. 399–404, 2010.

FERREIRA, S. R. S.; MEIRELES, M. A. A.; CABRAL, F. A. **Extraction of Essential Oil of Black Pepper with Liquid Carbon Dioxide.** Journal of Food Engineering, v. 20, p.12 1- 133, 1993.

FERREIRA, S. R. S.; NIKOLOV, Z. L.; DORAISWAMY, L. K.; MEIRELES, M. A. A.; PERENATE, A. J. **Supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil.** Journal of Supercritical Fluids, v. 14, p. 235–245, 1999.

FLAMM, G.; GLINSMANN, W.; KRITCHVSKY, D.; PROSKY, L.; ROBERFROID, M. **Inulin and oligofructose as dietary fiber: A review of the evidence.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 41(5), p. 353–362, 2001.

FONT QUER, P. **Plantas medicinales. El Discórides renovado.** 11 ed. Barcelona: Labor S.A., 1993.

FORNARI, T.; RUIZ-RODRIGUEZ, A.; VICENTE, G.; VAZQUEZ, E.; GARCIA-RISCO, M. R.; REGLERO, G. **Kinetic study of the supercritical CO<sub>2</sub> extraction of different plants from Lamiaceae family.** Journal of Supercritical Fluids, v. 64, p. 1–8, 2012.

FREITAS L. S., OLIVEIRA J.V., DARIVA C., JACQUES R. A., CARAMÃO, E. B. **Extraction of grape seed oil using compressed carbon dioxide and propane: extraction yields and characterization of free glycerol compounds.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 56, p. 2558-2564, 2008.

FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. **Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds.** Journal of Agriculture Food Chemistry, v. 48, n. 8, p. 3597-3604, 2000.

GENTIL, M.; PEREIRA, J. V.; SOUSA, Y. T.; PIETRO, R.; NETO, M. D.; VANSAN, L. P.; DE CASTRO FRANÇA, S. **In vitro evaluation of the antibacterial activity of *Arctium lappa* L. as a phytotherapeutic agent used in intracanal dressings.** Phytotherapy Research, v. 20 (3), p. 183-6, 2006.

GOMIDE, R. **Operações com sistemas sólidos granulares.** Em: R. Gomide (Ed.), in: Operações Unitárias. Edição do autor, São Paulo, v. 1, p. 27–30, 1983.

GUGLIUCCI, A.; BASTOS, D.H.; SCHULZE, J.; SOUZA, M.F. **Caffeic and chlorogenic acids in *Ilex paraguariensis* extracts are the main inhibitors of AGE generation by methylglyoxal in model proteins.** *Fitoterapia*, v. 80, n. 6, p. 339-44, 2009.

HAMDAN, S.; DAOOD, H. G.; TOTH-MARKUS, M.; ILLES, V. **Extraction of cardamom oil by supercritical carbon dioxide and sub-critical propane.** *Journal of Supercritical Fluids*, v. 44, p. 25–30, 2008.

HEDRICK, J. L.; MULKAHEY, L. J.; TAYLOR, L. T. **Supercritical Fluid Extraction.** *Mikrochimica Acta*, v. 108, p. 115-132, 1992.

HEGEL, P. E.; ZABALOY, M. S.; MABE, G. D. B.; PEREDA, S.; BRIGNOLE, E. A. **Phase equilibrium engineering of the extraction of oils from seeds using carbon dioxide + propane solvent mixtures.** *Journal of Supercritical Fluids*, v. 42, p. 318-324, 2007.

HIERRO, M. T. G. **Temas Avanzados de Análisis Químicas.** Edinford S. A., Madrid, 1994.

HOLLENDER, J.; SHNEINE, J.; DOTT, W.; HEINZEL, M.; HAGEMANN, H. W.; GOTZ, G. K. E. **Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from polluted soils with binary and ternary supercritical phases.** *Journal of Chromatography*, v. 776, p. 233–243, 1997.

HORNG, C. -T.; TSAI, M. -L.; HSUEH, C. -W.; HSU, S. -Y.; WANG, H. -Y.; CHEN, F. -A. **Antioxidant activity of *Arctium lappa* L. and its effect on biochemical parameters in exercised rats.** *Asian Journal of Chemistry*, v. 25, p. 1970-1974, 2013.

HRAS, A. R.; HADOLIN, M.; KNEZ, Z.; BAUMAN, D. **Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with  $\alpha$ -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil.** *Food Chemistry*, v. 71 (2), p. 229-233, 2000.

HU, M.; SKIBSTED, L. H. **Antioxidative capacity of rhizome extract and rhizome knot extract of edible lotus (*Nelumbo nuficera*).** *Food Chemistry*, v. 76, p. 327–333, 2002.

HUANG, D., OU, B.; PRIOR, R. L. **The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays.** *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.53, p.1841-1856, 2005.

ILLÉS, V.; DAOOD, H. G.; PERNECZKI, S.; SZOKONYA, L.; Then, M. **Extraction of coriander seed oil by CO<sub>2</sub> and propane at super and subcritical conditions.** *Journal of Supercritical Fluids*, v. 17, p. 177-186, 2000.

JAISWAL, R.; KUHNERT, N. **Identification and characterization of five new classes of chlorogenic acids in burdock (*Arctium lappa* L.) roots by liquid**

**chromatography/tandem mass spectrometry.** Food Funct., v. 2, p. 63–71, 2011.

JANG, Y. P.; KIM, S. R.; CHOI, Y. H.; KIM, J.; KIM, S. G.; MARKELONIS, G. J.; OH, T. H.; KIM, Y. C. **Arctigenin protects cultured cortical neurons from glutamate-induced neurodegeneration by binding to kainate receptor.** Journal of Neuroscience Research, v. 68, p. 233–240, 2002.

JEELANI, S.; KHUROO, M. A. **Triterpenoids from *Arctium lappa*.** Natural Product Research, v. 26, p. 654–658, 2012.

JEONG, Y.; PARK, J.; KIM, D.; KIM, H. **Arctigenin increases hemeoxygenase-1 gene expression by modulating PI3K/AKT signaling pathway in rat primary astrocytes.** Biomolecules and Therapeutics, v. 22, p. 497–502, 2014.

JIANG, X. -W.; BAI, J. -P.; ZHANG, Q.; HU, X. -L.; TIANG, X.; ZHU, J.; LIU, J.; MENG, W. -H.; ZHAO, Q. -C. **Caffeoylquinic acid derivatives from the roots of *Arctium lappa* L. (burdock) and their structure–activity relationships (SARs) of free radical scavenging activities.** Phytochemistry Letters, v. 15, p. 159–163, 2016.

JONES, F. A. **Herbs – useful plants. Their role in history and today.** European Journal Gastroenterology & Hepatology, v. 8, p. 1227–1231, 1996.

KADER, G.; NIKKON, F.; RASHID, M. A.; YEASMIN, T. **Antimicrobial activities of therhizomes extract of *Zingiber zerumbet* Linn.** Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, p. 409–412, 2011.

KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; VUORELA, H. J.; RAUHA J. -P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T. S.; HEINONEN, M. **Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds.** Journal of Agriculture and Food Chemistry, v. 47, p. 3954–3962, 1999.

KAMAZERI, T. S. A. T.; SAMAH, O. A.; TAHER, M.; SUSANTI, D.; QARALLEH, H. **Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zingiber cassumunar* from Malaysia.** Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, p. 202–209, 2012.

KENNY, O.; SMYTH, T. J.; WALSH, D.; KELLEHER, C. T.; HEWAGE, C. M.; BRUNTON, N. P. **Investigating the potential of under-utilised plants from the Asteraceae family as a source of natural antimicrobial and antioxidant extracts.** Food Chemistry, v. 161, p. 79–86, 2014.

KITAMURA, K.; HONDA, M.; YOSHIZAKI, H.; YAMAMOTO, S.; NAKANE, H.; FUKUSHIMA, M.; ONO, K.; TOKUNAGA, T. **Baicalin, an inhibitor of HIV-1 production *in vitro*.** Antiviral Research, v. 37, n. 2, p.131–140, 1998.

KURATA, R.; ADACHI, M.; YAMAKAWA, O.; YOSHIMOTO, M. **Growth suppression of human cancer cells by polyphenolics from sweetpotato**

**(Ipomoea batatas L.) leaves.** Journal of Agriculture and Food Chemistry, v. 55, p. 185-190, 2007.

LANZA, M.; NDIAYE, P. M.; TAVARES, W.; OLIVEIRA, D.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, J. V. **Phase behavior of castor oil in compressed propane and n-butane.** Journal of Supercritical Fluids, v. 34, p. 215–221, 2005.

LEAL, P. F.; BRAGA, M. E.; SATO, D. N.; CARVALHO, J. E.; MARQUES, M. O.; MEIRELES, M. A. **Functional properties of spices extracts obtained via supercritical fluid extraction.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, n. 9, p. 2520- 2525, 2003.

LEE, K. G.; SHIBAMOTO, T. **Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices.** Journal of Agriculture and Food Chemistry, v. 50, p. 4947–4952, 2002.

LEE, K. G.; SHIBAMOTO, T. **Inhibition of malonaldehyde formation from blood plasma oxidation by aroma extracts and aroma components isolated from clove and eucalyptus.** Food and Chemical Toxicology, v. 39 (12), p. 1199–1204, 2001.

LI, A.; WANG, J.; WU, M.; ZHANG, X.; ZHANG, H. **The inhibition of activated hepatic stellate cells proliferation by arctigenin through G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> phase cell cycle arrest: persistent p27<sup>Kip1</sup> induction by interfering with PI3K/Akt/FOXO3a signaling pathway.** European Journal of Pharmacology, v. 747, p. 71–87, 2015.

LIMA, A. R.; BARBOSA, V. C.; SANTOS FILHO, P. R.; GOUVÊA, C. M. C. P. **Avaliação in vitro da atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico de folhas de bardana.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, p. 531-536. 2006.

LIMA, R. P. E.; MAIA, M. S.; MATOS, W. R. **Levantamento de plantas medicinais comercializadas na feira livre do município de Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil.** Universidade UNIGRANRIO, Saúde & Ambiente em Revista, Duque de Caxias, v. 4 (2), p. 34-39, 2009.

LIN, C. C.; LU, J. M.; YANG, J. J.; CHUANG, S. C.; UJIE, T. **Anti-inflammatory and radical scavenge effects of Arctium lappa.** The American Journal of Chinese Medicine, v. 24, p. 127-137, 1996.

LIN, L. -Z.; HARNLY, J. M. **Identification of hydroxy cinnamoylquinic acids of arnica flowers and burdock roots using a standardized LC-DAD-ESI/MS profiling method.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 56, p. 10105-10114, 2008.

LIN, S. C.; LIN, C. H.; LIN, C. C.; LIN, Y. H.; CHEN, C. F.; CHEN, I. C.; WANG, L. Y. **Hepatoprotective effects of Arctium lappa Linne on liver injuries induced by chronic ethanol consumption and potentiated by carbon tetrachloride.** Journal of Biomedical Science, v. 9, p. 401-409, 2002.

LINSTROM, P. J.; MALLARD, W. G. **National Institute of Standards and Technology**, 2012. Disponível em: <<http://webbook.nist.gov/chemistry/fluid>> Acesso em 17 de junho de 2017.

LIU, H.; YANG, Y.; CAI, X.; GAO, Y.; DU, J.; CHEN, S. **The effects of arctigenin on human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes**. *Pharmaceutical Biology*, v. 5, p. 1–6, 2015.

LIU, S.; CHEN, K.; SCHLIEMAN, D. **Isolation and identification of arctiin e arctigenin in leaves of burdock (*Arctium lappa* L.) by polyamide column chromatography in combination with HPLC-ESI/MS**. *Phytochemical Analysis*, v.16, p. 86-89, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, p. 544, 2002.

LYM, R. G.; TRAVNICEK, A. J. **Identification and control of invasive and troublesome weeds in North Dakota**. NDSU – North Dakota State University. 2015.

MA, S. -T.; LIU, D. -L.; DENG, J. -J.; NIU, R.; LIU, R. -B. **Effect of arctiin on glomerular filtration barrier damage in STZ-induced diabetic nephropathy rats**. *Phytother Res.*, v. 27 (10), p. 1474-1480, 2013.

MARTINÉZ, J. **Extração de Óleos Voláteis e Outros Compostos com CO<sub>2</sub> Supercrítico: Desenvolvimento de uma Metodologia de Aumento de Escala a partir da Modelagem Matemática do Processo e Avaliação dos Extratos Obtidos**. 172 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M. DE; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. 2.ed. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, p. 220, 2000.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A.S.; DOS SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. **Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method**. *Phytotherapy Research*, v. 15, p. 127–130, 2001.

MESOMO, M.C. **Obtenção de extrato de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) usando CO<sub>2</sub> supercrítico e propano comprimido: cinética de extração e atividade biológica**. 79 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

MESOMO, M.C.; SCHEER, A. P.; PEREZ, E.; NDIAYE, P.M.; CORAZZA, M.L. **Ginger (*Zingiber officinale* R.) extracts obtained using supercritical CO<sub>2</sub> and compressed propane: kinetics and antioxidant activity evaluation**. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 71, p. 102-109, 2012.

MICHIELIN, E. M. Z.; SALVADOR, A. A.; RIEHL, C. A. S.; SMÂNIA JR, A.; SMÂNIA, E. F. A.; FERREIRA, S. R. S. **Chemical composition and antibacterial activity of *Cordia verbenacea* extracts obtained by different methods.** Bioresource Technology, v. 100, p. 6615–6623, 2009.

MIGUEL, A.; ANDRADE, J. B. **Rapid Quantification of tem polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric aerosols by direct HPLC separation after ultrasonic acetonitrile extraction.** International Journal Environmental Analytical Chemistry, v. 35, p. 35–41, 1989.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P.R.; VAN BEEK, T.A. **Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts.** Food Chemistry, v. 85, p. 231–237, 2004.

MING, D. S.; GUNS, E. S.; EBERDING, A.; TOWERS, G. H. N. **Isolation and characterization of compounds with antri-prostate câncer activity from *Arctium lappa* L. using bioactivity-guided fractionation.** Pharmaceutical Biology, v. 42 (1), p. 44–48, 2004.

MITSUO, M.; NOBUO, Y.; KATSUYA, T. **Inhibitory compounds of alpha glucosidase activity from *Arctium lappa* L.** Journal of Japan Oil Chemists' Society, v. 54, p. 589–594, 2005.

MOLYNEUX, P. **The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.** Songklanakarin Journal of Science and Technology, v. 26, p. 211–219, 2004.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos.** São Paulo: Varela, 1998.

MORGAN, R. **Enciclopédia das ervas e plantas medicinais.** 9.ed. São Paulo: Hemus, p. 555, 2003.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. **Extraction and analysis of phenolics in food.** Journal of Chromatography A, v. 1054, p. 95–111, 2004.

NASS, L. **Recursos genéticos vegetais.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos Vegetais e Biotecnologia, 2007.

NDIAYE, P. M.; FRANCESCHI, E.; OLIVEIRA, D.; DARIVA, C.; TAVARES, F. W.; OLIVEIRA, J. V. **Phase behavior of soybean oil, castor oil and their fatty acid ethyl esters in carbon dioxide at high pressures.** Journal of Supercritical Fluids, v. 37, p. 29–37, 2006a.

NDIAYE, P. M.; LANZA, M.; TAVARES, F. W.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J. V. **Phase behavior of olive and soybean oils in compressed propane and n-butane.** Brazilian Journal of Chemical Engineering, v. 23, p. 405–415, 2006b.



NIKKO. **Fotografia Nikko**, 2016. Disponível em: <<http://hashitag.com.br/as-raizes-da-culinaria-oriental/>>. Acesso em: 18 de setembro de 2016.

OUCHIKH, O.; CHAHED, T.; KSOURI, R.; TAARIT, M. B.; FALEH, H.; ABDELLY, C.; KCHOUK, M. E.; MARZOUK, B. **The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs**. Journal of Food Composition and Analysis, v. 24, p. 103–110, 2011.

OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. **Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes***. Food Control, v. 18 (5), p. 414-420, 2007.

PARK, S. Y.; HONG, S. S.; HAN, X. H.; HWANG, J. S.; LEE, D.; RO, J. S.; HWANG, B. Y. **Lignans from *Arctium lappa* and Their Inhibition of LPS-Induced Nitric Oxide**. Production.Chemical and Pharmaceutical Bulletin, v. 55, p. 150-152, 2007.

PEDERSSETTI, M. M. **Análise dos efeitos da temperatura e pressão na extração supercrítica do óleo essencial de canola com dióxido de carbono supercrítico e n- propano pressurizado**. 90 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2008.

PEDERSSETTI, M. M.; PALÚ, F.; DA SILVA, E. A.; ROHLING, J. H.; CARDOZO F., L.; DARIVA, C. **Extraction of canola seed (*Brassica napus*) oil using compressed propano and supercritical carbone dioxide**. Journal of Food Engineering, v.102, p.189-196, 2011.

PEREIRA, C.G.; MARQUES, M. O. M.; BARRETO, A. S.; SIANI, A. C.; FERNANDES, E. C.; MEIRELES, M. A. A. **Extraction of indole alkaloids from *Tabernaemontana catharinensis* using supercritical CO<sub>2</sub> + ethanol: an evaluation of the process variables and the raw material origin**. Journal of Supercritical Fluids. v. 30 (1), p. 51-61, 2004.

PEREIRA, M. G.; HAMERSKI, F.; ANDRADE, E. F.; SCHEER, A. DE P.; CORAZZA; M. L. **Assessment of subcritical propane, ultrasound-assisted and Soxhlet extraction of oil from sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) seeds**. The Journal of Supercritical Fluids, v. 128, p. 338-348, 2017.

PRICE, M.L.; BUTLER, L.G. **Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 25 (6), p. 1268-1273, 1977.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. **Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E**. Analytical Biochemistry, v. 269, p. 337-341, 1999.

PRONYK, C.; MAZZA, G. **Design and scale-up of pressurized fluid extractors for food and byproducts.** Journal of Food Engineering, v. 95, p. 215–226, 2009.

QUISPE-CONDORI, S.; S'ANCHEZ, D.; FOGLIO, M. A.; ROSA, P. T. V.; ZETZL, C.; BRUNNER, G.; MEIRELES, M. A. A. **Global yield isotherms and kinetic of artemisinin extraction from *Artemisia annua* L leaves using supercritical carbon dioxide.** Journal of Supercritical Fluids, v. 36, p. 40–48, 2005.

RAVENTÓS, M.; DUARTE, S.; ALARCÓN, R. **Application and possibilities of supercritical CO<sub>2</sub> extraction in food processing industry: an overview.** Food Science and Technology International, v. 8 (5), p. 269–284, 2002.

RAZAVI, S. M.; NAZEMIYEH, H.; HAJIBOLAND, R.; KUMARASAMY, Y.; DELAZAR, A.; NAHAR, L.; SARKER, S. D. **Coumarins from the aerial parts of *Prangos uloptera* (Apiaceae).** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18, p. 1–5, 2008.

REHMAN, Z.; HABIB, F.; SHAH, W. H. **Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil.** Food Chemistry, v. 85 (2), p. 215–220, 2004.

REICHARDT, C. **Solvents and solvent effects in organic chemistry.** Journal of Chemical Education Wiley-VCH Publishers, v. 3, p. 629, 2003.

REVERCHON, E.; DE MARCO, I. **Review, Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter.** Journal of Supercritical Fluids, v. 38, p. 146–166, 2006.

RIBAS, M.C.; MANTOVANI, D.; AWADALLAK, J.A.; CANEVESI, R.L.; TAZINAFO, N.M.; FILHO, L.C.; PALÚ, F.; SILVA, E.A. **Study of candeia oil extraction using pressurized fluid and purification by adsorption process.** Journal of Supercritical Fluids, v. 92, p. 177–182, 2014.

ROBERFROID, M.; GIBSON, G. R.; DELZENE, N. **The biochemistry of oligofructose, a nondigestible fiber: An approach to calculate its caloric value.** Nutrition Reviews, v. 51 (5), p. 137–146, 1993.

ROGINSKY, Y. V.; LISSI, E. A. **Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food.** Food Chemistry, v. 92, p. 235–254, 2005.

ROY, C. B.; GOTO, M.; HIROSE, T. **Extraction of ginger oil with supercritical carbon dioxide: experimental and modeling.** Industrial & Engineering and Chemistry Research, v. 35, p. 607–612, 1996.

RUBERTO, G.; BARATTA, M. T. **Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model system.** Food Chemistry, v. 69, p. 167–174, 2000.



SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. **Comparative evaluation of 11 essential oils of different origins functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods.** Food Chemistry, v. 91, p. 621-632, 2005.

SAILLENFAIT, A. M.; SABATÉ, J. P.; ROBERT, A.; COSSEC, B.; ROUDOT, A. C.; DENIS, F.; BURGART, M. **Adverse effects of diisooctyl phthalate on the male rat reproductive development following prenatal exposure.** Reproductive Toxicology, v. 42, p. 192-202, 2013.

SALUNKHE, O.K.; CHAVAN, J.K.; KADAM, S.S. **Dietary Tannins: Consequences and Remedies**, CRC Press, Boca Raton, FL, 1989.

SAMADI, M.; ABIDIN, Z. Z.; YUNUS, R.; BIAK, D. R. A.; YOSHIDA, H.; LOK, E. H. **Assessing the kinetic model of hydro-distillation and chemical composition of Aquilaria malaccensis leaves essential oil.** Chinese Journal of Chemical Engineering, v. 25, p. 216-222, 2017.

SASAKI, Y.; KIMURA, Y.; TSUNODA, T.; TAGAMI, H. **Anaphylaxis due to burdock.** Int J Dermatol, v. 42, p. 472–473. 2003.

SCHOONEN, J.W.; SALES, M.G.F. **Determination of polyphenols in wines by reaction with 4-aminoantipyrine and photometric flow-injection analysis.** Analytical and Bioanalytical Chemistry, v. 372, p.822-828, 2002.

SEVIGNANI, E; JACOMASSI, A. **Levantamento de plantas medicinais e suas aplicações na vida rural “Serra dos Dourados” – Umuarama – PR.** Arquivos Ciências da Saúde Unipar, v. 7 (1), p. 27-31, 2003.

SILVA, D.C. de M.N. da. **Determinação experimental de parâmetros de processo na extração supercrítica de óleo essencial de carqueja (*Baccharistrimera less*).** 130f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. DOS S.; KOBLITZ, M. G. B. **Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais.** Seminário: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31 (3), p. 669- 682, 2010.

SIMÕES, C. O; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento.** Ed. Universidade- UFRGS e Ed. Da UFSC. Porto Alegre e Florianópolis, p. 821, 1999.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. **Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent.** Methods in Enzymology, v. 29, p. 152–178, 1999.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. JR. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents**. American Journal of Enology and Viticulture, v. 16, p. 144–158, 1965.

SIVASOTHY, Y.; CHONG, W. K.; HAMID, A.; ELDEEN, I. M.; SULAIMAN, S. F.; AWANG, K. **Essential oils of *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade and their antibacterial activities**. Food Chemistry, v. 124, p. 514–517, 2011.

SOARES, S.E. **Ácidos fenólicos como antioxidantes**. Revista de Nutrição, v. 15, p. 71-81, 2002.

SOKULSKI, M.; OLIPHANT, J. **The wild edible series part 1 – Burdock**. Food under foot. 2009. Disponível em:

<<http://www.foodunderfoot.com/WildEdibleDownload/part1/BURDOCK%20-%20Wild%20Edible%20Series.pdf>>. Acesso em: 13 de setembro de 2016.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, M. G. **Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents**. Current Opinion in Biotechnology, v. 23, p. 136-141, 2012.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R. S.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. C.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; ARAÚJO, P. M. A.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M.H. **Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais**. Química Nova, v. 30, p. 351-355, 2007.

STEFFANI, E. **Modelagem Matemática do Processo de Extração Supercrítica de Óleo Essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm var. *linaloolifera* Fujita) utilizando CO<sub>2</sub>**. 92 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Departamento de pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

STRATIL, P., KLEJDUS, B., KUBÁŇ, V. **Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals**. Talanta, v. 71, p. 1741-1751, 2007.

TAMURA, H.; AKIOKA, T.; UENO, K.; CHUJYO, T.; OKAZAKI, K. -I.; KING, P. J.; JR, W. E. R. **Anti-human immunodeficiency virus activity of 3,4,5-tricaffeoylquinic acid in cultured cells of lettuce leaves**. Molecular Nutrition Food Research, v. 50, p. 396-400, 2006.

TEZUKA, Y.; YAMAMOTO, K.; AWALE, S.; LIA, F.; YOMODA, S.; KADOTA, S. **Antiausteric activity of phenolic constituents of seeds of *Arctium lappa***. Natural Product Communications, v. 8 (4), p. 463-466, 2013.

THE PHEROBASE. **Database of pheromones and semiochemicals**, 2017. Disponível em: <[www.pherobase.com/database/kovats/kovatsindex.php](http://www.pherobase.com/database/kovats/kovatsindex.php)>. Acesso em 18 de julho de 2017.

VAN ACKER, S. A. B. E.; VAN DEN BERG, D.; TROMP, N. J. L.; GRIFFIOEN, D. H.; VAN BENNEKOM, W. P.; VAN DER VIJGH, W. J. F.; BAST, A.

**Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids.** Free Radical Biology & Medicine, v. 20 (3), p. 331-342, 1996.

VAN WYK, B. -E.; WINK, M. **Medicinal Plants of the World: An Illustrated Scientific Guide to Important Medicinal Plants and Their Uses.** Timber Press, Portland, 2004.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. **Óleo essencial de Eucalipto.** 2003. Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/docflorestais/df17.pdf>>. Acesso em: 19/02/2017.

VLIETINCK, A. J.; DE BRUYNE, T.; APERS, S.; PIETERS, L. A. **Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection.** Planta Medicinale, v. 64 (2), p. 97-109, 1998.

WAGNER, Z.; PAVLÍČEK, J. **Vapour-liquid equilibrium in the carbon dioxide-p-cymene system at high pressure.** Fluid Phase Equilibria, v. 90 (1), p.135-141. 1993.

WANG, B. -J.; LIEN, Y. -H.; YU, Z. -R. **Supercritical fluid extractive fractionation – study of the antioxidant activities of propolis.** Food Chemistry. v.86 (2), p. 237-243, 2004.

WANG, C. -H.; CHUNG, F. -Y.; TSAI, T. -R.; LIN, S. -R.; LIU, H. -C. **Development of great burdock essence compounds.** Genomic Medicine, Biomarkers and Health Sciences, v. 4, p. 45-47, 2012.

WANG, Q.; WANG, Y.; PU, S.; ZHENG, Y. **Zinc coupling potentiates anti-HIV-1 activity of baicalin.** Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 324 (2), p. 605-10, 2004.

WENNERSTEN, R. Extraction of organic compounds. Chap 9. In: In: RYDBERG, J.; MUSIKAS, C.; CHOPPIN, G. R. **Principles and practices of solvent extraction.** New York: Marcel Dekker, p. 115-356, 1992.

WILLIAMS, D. G. **The chemistry of essential oils.** England: Micelle, 334p, 1996.

WU, Y. -C.; LIN, L. -F.; YEH, C. -S.; LIN, Y. -L.; CHANG, H. -J.; LIN, S. -R.; CHANG, M. -Y.; HSIAO, C. -P.; LEE, S. -C. **Burdock essence promotes gastrointestinal mucosal repair in ulcer patients.** Fooyin Journal of Health Sciences, v. 2, p. 26-31, 2010.

XUE, L. -L.; CHEN, H. -H.; JIANG, J. -G. **Implications of glycerol metabolism for lipid production.** Progress in Lipid Research, v. 68, p. 12-25, 2017.

YEPES, B.; ESPINOSA, M.; LÓPEZ, S.; BOLAÑOS, G. **Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction.** Fluid Phase Equilibria. v. 194-197, p. 879-884, 2002.

YU, X.; ZHAO, M.; LIU, F.; ZENG, S.; HU, J. **Antioxidants in volatile Maillard reaction products: Identification and interaction.** LWT - Food Science and Technology, v. 53, p. 22-28, 2013a.

YU, X.; ZHAO, M.; LIU, F.; ZENG, S.; HU, J. **Identification of 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one as a strong antioxidant in glucose-histidine Maillard reaction products.** Food Research International, v. 51, p. 397–403, 2013b.

**APÊNDICE A**

CROMATOGRAMAS DA ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA POR CG DE EXTRATOS DE RAÍZ DE BARDANA OBTIDOS COM (A)  $\text{scCO}_2$  A 15 MPa, 60 °C E PROPORÇÃO MÁSSICA DE 1:1; (B)  $\text{scCO}_2$  A 20 MPa, 80 °C E 1:1; E (C) PROPANO A 5 MPa, 60 °C E 2:1.

